



Modulation de la plasticité synaptique par les prostaglandines E2 à la synapse fibre moussue/cellule pyramidale CA3 en conditions physiologiques et dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer

Vincent Maingret

► To cite this version:

Vincent Maingret. Modulation de la plasticité synaptique par les prostaglandines E2 à la synapse fibre moussue/cellule pyramidale CA3 en conditions physiologiques et dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Bordeaux, 2014. Français. NNT : 2014BORD0313 . tel-01170635

HAL Id: tel-01170635

<https://theses.hal.science/tel-01170635>

Submitted on 2 Jul 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

Année 2014

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention : Sciences de la Vie et de la Santé

Option : Neurosciences

Par **Vincent MAINGRET**

Né le 23 Novembre 1986 à La Rochelle

**Modulation de la plasticité synaptique par la
prostaglandine E₂ à la synapse fibre moussue/cellule
pyramidale CA3 en conditions physiologiques et dans un
modèle murin de la maladie d'Alzheimer**

Soutenue publiquement le 12 décembre 2014

Membres du jury :

M. OLIET, Stéphane	Directeur de recherche CNRS	Président
Mme MARIE, Hélène	Chargé de recherche CNRS	Rapporteur
M. GIAUME, Christian	Directeur de recherche CNRS	Rapporteur
Mme CHO, Yoon	Maître de conférence Université Bordeaux	Examineur
M. MALLAT, Michel	Directeur de recherche INSERM	Examineur
M. AMEDEE, Thierry	Directeur de recherche CNRS	Directeur de thèse

A mes parents,

A mon frère François et ma sœur Nathalie,

A Marion et Jean-Philippe,

Et à mes petits bouts, Antoine, Lola et Clémence.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer mes travaux et me font l'honneur de leur présence lors de la soutenance : le Dr Stéphane Olier, le Dr Hélène Marie, le Dr Christian Giaume, le Dr Yoon Cho et le Dr Michel Mallat.

Je tiens à remercier le Dr Christophe Mulle pour m'avoir permis de travailler au sein de son équipe et ce depuis le stage de Master 1. Ce fût une expérience enrichissante et scientifiquement passionnante. Merci surtout de m'avoir appris ce jeu magnifique qu'est le Fukushima !

Merci à la région Aquitaine et à la Fondation pour la Recherche Médicale pour leur soutien financier

Tout d'abord un grand merci à Sensei Blanchet pour m'avoir fait découvrir l'électrophysiologie et enseigné tout (ou presque) ce qu'il y avait à savoir sur cette « messy fiber » lors des 2 stages de master 1 et 2 et encore pendant cette thèse.

Un grand merci à Sabine, ma végétarienne-qui-n'aime-pas-les-légumes préférée ! Et dire que je ne pouvais pas te saquer avant le master ! Tout ça a bien changé et je suis content d'avoir pu partager tout ça avec toi pendant ces 5 années. Je te remercie vraiment de m'avoir aidé quand ça allait moins bien, tout ça n'aurait pas été pareil sans toi...

Merci à Isa, Séverine, Julie, Camille, Sandrine, Audrey, Noëlle et les petits PIVets : Mélissa, Florian et Amandine pour tous les moments passés dans la bonne humeur le midi avec mention spéciale à Isa et Florian qui sans faire exprès, au naturel, nous font quand même bien marrer !!! Séverine Julie et Isa, merci d'avoir pris du temps pour essayer de me convertir à la biomol mais je crois que je suis imperméable !!

Merci à toute l'équipe « Physiologie de la synapse glutamatergique » du Dr C. Mulle. Ces 5 années passées en votre compagnie resteront un souvenir particulier. Thanks particularly to Silvia who taught me how to deal with old animals. You were a lab sister to me! Thanks !! And you are not that old !! Mr Jimmy Georges...i'm still waiting for nans !! I was happy to share this setup with you and I really hope you'll do great in Science!!! I also want to thanks Mr Adam for those daily jokes and, one day, I will teach you how to win a tipster competition like you taught me how to do awesome immunos!! Merci à Mario, Stefano, Marilena, Julien Véran (Allez Paris !), Benoît SDF, l'exilé amiénois, Virginie qui a été une mère pour moi et qui a su trouver les mots au moment où j'en avais besoin, Bernat qui m'a « gentiment » donné l'organisation du Journal Club pour aller finir sa thèse à Amsterdam....LIAR !!! Gaël (bobinou), avec qui je pourrai parler science pendant des heures et dont les craquages égayaient mes journées. Merci à tous pour ces années d'électrophysiologie !! Je tiens à ajouter un grand merci à 2 personnes qui ne sont plus dans ce laboratoire au quotidien mais qui m'ont éduqué scientifiquement, Nelson et Fred ! Fred, ton siège était très confortable!!!

Je tiens à remercier le Pôle In Vivo pour le travail effectué auprès des animaux transgéniques et particulièrement les petits monstres APP/PS1. Flo, Mélissa Amandine et Audrey vous avez juste été super avec les utilisateurs mais aussi avec les animaux et avoir une telle plateforme avec des personnes aussi compétentes nous permet de travailler dans des conditions vraiment excellentes. Et bien sûr merci à la Chef Eli, la claque journalière va me manquer !

Merci aussi à Sébastien (et aux personnels du BIC) qui m'a sauvé la vie à quelques jours de la fin de l'écriture de ce manuscrit. Je regrette de n'avoir pas fait plus d'immuno juste pour pouvoir continuer à descendre déconner avec toi au BIC !!!

Merci à tous les membres de l'institut avec qui j'ai pu partager des moments sympathiques tout au long de ces 5 années. Mélanie, Cédric, désolé encore d'avoir inondé votre bureau de ma présence !! C'était pour la bonne cause.... Merci à Rémi, pilier de l'institut et redoutable joueur de carte, LEEEEERRRROYYY JENNNKINS !!!

Enfin, le meilleur pour la fin, Thierry, félicitations d'abord pour m'avoir supporté durant ces 3 années, je ne suis pas l'étudiant idéal, mais j'ai vraiment apprécié réalisé ce travail à tes côtés aussi bien scientifiquement que personnellement. Je n'aurai pas réussi à te faire supporter le PSG mais je sais que tu es devenu fan de Zlatan. Bon par contre arrête les légumes le midi c'est ridicule !!! Je t'ai vu manger des trucs à Bönn et Milan qui ne sont pas recommandés dans ce régime !!! Le plus beau restera cette marseillaise, debout, mains sur le cœur dans ce bar italien.... Priceless !!! Plomberie, Voiture, Monstres sous mon lit, j'ai quand même pas eu de bol pendant ces 3 années...!!! Malgré tout, partis de rien nous avons réussi à écrire une belle histoire et je pense qu'on peut être fier de ça !!! Tu m'as fait rentrer dans ton monde des cellules gliales et j'ai énormément appris à tes cotés. Merci pour tout en espérant une fin heureuse à ce papier !!!

Non je ne t'ai pas oublié, merci à toi et tout ce que tu m'as apporté pendant ces 3 années et la dernière en particulier. Pas toujours facile entre nous, mais tu as définitivement une place bien particulière et je pense que je te dois l'avancée de mes travaux cette année. Par contre quel caractère !!!! Et non, après la soutenance je ne t'oublierai pas Mlle Lacquemant.

Merci à toute ma famille pour leur soutien, Papa maman, ça y est je suis plus étudiant !!! Bon je suis chômeur par contre....

RESUME

La maladie d'Alzheimer (MA) est la forme la plus commune de démence chez les personnes âgées. La maladie se caractérise par des pertes de fonctions cognitives et plusieurs études ont montré une étroite relation entre la neuroinflammation, les déficits synaptiques et la perte des fonctions cognitives dans la MA. L'importance de la composante neuroinflammatoire a été démontrée essentiellement grâce à des données épidémiologiques rapportant une prévalence diminuée de 40 à 70% chez des patients traités chroniquement par des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pour d'autres pathologies. Les AINS sont des inhibiteurs des enzymes de synthèse des prostaglandines. Les prostaglandines sont des métabolites de l'acide arachidonique. Parmi ces prostaglandines, la PGE₂ est connue pour moduler la transmission et les plasticités synaptiques dans l'hippocampe et son expression est fortement augmentée dans la maladie d'Alzheimer. De nombreux travaux rapportent l'existence de déficits synaptiques dans la MA, notamment dans l'hippocampe, siège de la mémoire et de l'apprentissage. Ces travaux se sont focalisés sur les déficits postsynaptiques à la synapse archétypique formée entre les cellules pyramidales CA3 et CA1. A l'inverse, la synapse formée entre les fibres moussues et les cellules pyramidales CA3 (FM-CA3) exprime des plasticités présynaptiques atypiques, à court et à long terme, indépendantes des récepteurs NMDA et il n'existe que très peu d'études concernant ces plasticités dans le contexte de MA. L'objectif de cette étude a été de montrer l'implication de PGE₂ dans les déficits synaptiques à la synapse FM-CA3 dans un modèle murin de la MA, la souris double transgénique APP^{swe}/PS1^{ΔE9} (APP/PS1). Nos résultats montrent que l'application exogène de PGE₂ chez des souris sauvages entraîne un déficit de plasticité uniquement sur la potentialisation à long terme (PLT) exprimée présynaptiquement *via* l'activation spécifique du récepteur EP3. Nous montrons aussi que dans la souris APP/PS1, seule cette PLT présynaptique est impactée à partir de 12 mois. Enfin, ce déficit de la PLT présynaptique pour la souris APP/PS1 est réversé par un inhibiteur spécifique des récepteurs EP3 montrant ainsi un rôle clé pour la signalisation PGE₂ - EP3 dans les déficits synaptiques hippocampaux de ce modèle murin de la maladie d'Alzheimer.

Mots clés: *hippocampe, fibres moussues, plasticité synaptique, PLT présynaptique, PGE₂, Maladie d'Alzheimer*

SUMMARY

Modulation of synaptic plasticity by PGE₂ at mossy fiber/CA3 synapse in physiological condition and in a mouse model of Alzheimer disease

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia in elder people characterized by a loss of cognitive function linked to synaptic deficits. There is considerable evidence that neuroinflammation and AD are intimately linked. The key role of neuroinflammation in the course of the disease was figured out by epidemiological studies reporting a reduced prevalence to develop AD for patients chronically treated with Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). Prostaglandins are lipidic mediators derived from arachidonic acid and their synthesis is inhibited by NSAIDs. Among prostaglandins, PGE₂ is known to modulate synaptic transmission and plasticity in the hippocampus and its concentration is higher in brains from AD patients. Numerous studies have reported synaptic deficits in the course of AD, mainly in the hippocampus which is essential for cognitive functions like learning or memory formation. The vast majority of these studies were focused on postsynaptic deficits at the canonical CA3-CA1 synapse. On the opposite, the synapse between mossy fiber and CA3 pyramidal cell (Mf-CA3) that express presynaptic short-term and long-term plasticity, was poorly studied in the context of AD. The aim of my project was to decipher the involvement of PGE₂ in synaptic deficits in a mouse model of AD, the APP^{swe}/PS1^{ΔE9} (APP/PS1). Our results show that acute application of PGE₂ on wild type young mice impairs only presynaptic long term potentiation (LTP) at the Mf-CA3 synapse *via* the specific activation of EP3 receptor. In APP/PS1 mice, we demonstrate that the sole deficit at the Mf-CA3 synapse is an impairment of the presynaptic LTP at 12 months of age. Finally we demonstrate that the impaired presynaptic LTP in APP/PS1 mice can be rescued by the acute application of a specific EP3 receptor antagonist, pointing out the key role of PGE₂ - EP3 signaling pathway in synaptic deficits in hippocampus in a mouse model of AD.

Keywords: *hippocampus, mossy fiber, presynaptic LTP, PGE₂, Alzheimer's disease, synaptic plasticity*

TABLE DES MATIERES

RESUME.....	5
SUMMARY.....	6
ABREVIATIONS	9
INTRODUCTION.....	11
I. La Maladie d’Alzheimer (MA).....	12
A. Progression de la MA au niveau clinique.....	12
B. Caractéristiques histo-pathologiques de la MA.....	14
1. Hypothèse amyloïde : processus protéolytique d’APP	15
2. Le peptide Aβ.....	19
3. Hyperphosphorylation de la protéine Tau intracellulaire.....	23
C. Formes sporadiques et familiales de la MA	25
1. Forme sporadique : facteurs de risques.....	25
2. Forme familiale : preuves génétiques	27
D. Modèles murins de la maladie d’Alzheimer.....	27
E. Stratégies cliniques.....	30
II. Neuroinflammation	31
A. Neuroinflammation	31
B. Neuroinflammation et MA.....	32
1. Les acteurs de la neuroinflammation : microglie et astrocytes	33
2. Les médiateurs de l’inflammation.....	35
III. Médiateurs lipidiques : Les Prostaglandines	35
A. Synthèse de prostaglandines.....	36
B. Synthèse de la prostaglandine de type E ₂ (PGE ₂).....	37
C. Récepteurs aux PGE ₂	39
D. Fonctions des PGE ₂	42
1. Au niveau périphérique.....	42

2. Au niveau du système nerveux central	43
E. Implication de PGE ₂ dans la pathogenèse de la MA	45
1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et MA	45
2. Rôles des récepteurs aux PGE ₂ dans la MA.....	47
IV. La synapse fibre moussue-cellule pyramidale de CA3 (FM-CA3).....	50
A. Hippocampe et Circuit trisynaptique.....	50
B. Mécanismes de ségrégation des fibres moussues.....	52
C. Morphologie des synapses FM-CA3	52
D. Transmission et plasticité synaptique.....	55
1. Généralités : la synapse excitatrice glutamatergique	55
2. Mécanismes moléculaires de la transmission synaptique	55
3. La transmission glutamatergique : récepteurs du glutamate	56
E. Plasticités synaptiques à la synapse FM/CA3	59
1. Plasticités à court terme	59
2. Plasticités à long terme	60
F. Rôles fonctionnels de la synapse FM-CA3	64
V. Déficits synaptiques dans la MA	65
A. Implication du peptide Aβ dans les déficits synaptiques.....	65
B. Implication de la protéine Tau dans les déficits synaptiques	66
C. Déficits synaptiques dans l'hippocampe	67
1. Déficits synaptiques à la synapse classique CA3-CA1	67
2. Déficits synaptiques à la synapse PP-GD	68
3. Déficits synaptiques à la synapse FM-CA3	68
OBJECTIFS DU TRAVAIL.....	70
RÉSULTATS	73
DISCUSSION ET PERSPECTIVES	108
ANNEXES.....	119
BIBLIOGRAPHIE	123

ABBREVIATIONS

5-HT: 5-hydroxytryptamine
A β : peptide amyloïde
AC: Adénylate cyclase
AChE: Acetylcholine esterase
ADNC: Acide désoxyribonuclique complémentaire
AICD: APP intracellular domain
AINS: Anti-inflammatoire non stéroïdien
AMPA: α -amino-3-hydroxy-5-methylisozazol-4-propionate
AMPc: Adénosine monophosphate cyclique
APOE : Apolipoprotéine E
APP: Amyloïd Precursor Protein
ARNm: Acide ribonucléique messenger
ATP: Adénosine triphosphate
BACE: B-site APP Cleaving Enzyme
BHE: Barrière hématoencéphalique
CA: Corne d'Ammon
CCVD: Canaux calciques voltage-dépendant
COX: Cyclooxygénase
CPC: Conditionnement de peur contextuelle
cPGES: cytosolic prostaglandin E synthase
CPSE: Courant postsynaptique exciteur
DLT: Dépression à long terme
EC: Entorhinal cortex
EP: endogen prostanoid receptors
FF: Facilitation en fréquence

FM-CA3: Synapse fibre moussue-cellule pyramidale CA3

FP: Facilitation en paire

GD: *Gyrus* dentelé

Gi: Protéine G inhibitrice

Gs: Protéine G stimulatrice

IDE: Insuline degrading enzyme

IL: Interleukine

LCR: Liquide céphalorachidien

LPS: Lipopolysaccharide

MA: Maladie d'Alzheimer

MCI: Mild Cognitive Impairment

MMSE: Mini-Mental State Examination

mPGES: microsomal prostaglandin E synthase

NMDA: N-méthyl-D-aspartate

PA: Potentiel d'action

PG: Prostaglandine

PGE₂: Prostaglandine de type E₂

PKA: Protéine kinase A

PKC: Protéine kinase C

PLC : Phospholipase C

PLT: Potentialisation à long terme

PLT: Potentialisation à long terme

PP: Perforant path (voie perforante)

PS: Présiniline

RCPG: Récepteurs couplés aux protéines G

SNC: Système Nerveux Central

TNF: Tumor necrosis factor

TX: Thromboxane

Introduction

INTRODUCTION

I. La Maladie d'Alzheimer (MA)

La maladie d'Alzheimer (MA) décrite pour la première fois par Aloïs Alzheimer en 1907 (Alzheimer, 1907 ; Stelzmann et al., 1995) est une maladie neurodégénérative qui altère les fonctions cognitives et la mémoire conduisant progressivement à une démence. La MA est la forme la plus commune de démence diagnostiquée chez les personnes de plus de 65 ans. En France, le nombre de patients Alzheimer a été évalué à 850 000 en 2009 (Etude PAQUID, Dartigues et al., 1991; Dubois, 2009). Une projection récente fait état de 1,2 millions de personnes atteintes à l'horizon 2020. Aux Etats-Unis, une personne sur neuf âgée de plus de 65 ans souffre de la MA, et ce chiffre atteint une personne sur trois chez les personnes âgées de plus de 85 ans (Hebert et al., 2003). Basée sur l'âge d'apparition des symptômes, la maladie d'Alzheimer peut être classifiée en deux formes : MA précoce (apparition avant 65 ans ; formes familiales) et MA tardive (apparition après 65 ans ; formes sporadiques). La forme précoce de la maladie compte pour 1 à 5 % des cas alors que la forme tardive compte pour plus de 95% des cas. D'un point de vue clinique, les deux formes ne peuvent pas être distinguées, cependant la forme précoce progresse beaucoup plus rapidement.

A. Progression de la MA au niveau clinique

La MA est caractérisée par une phase préclinique asymptomatique qui évolue sur plusieurs années (Mayeux, 2010 ; Figure 1). Durant cette phase préclinique, les patients présentent des amnésies rétrogrades mineures et se plaignent d'une diminution des fonctions cognitives (Grober et al., 2008; Rabin et al., 2009; Albert, 2011). Cette phase préclinique est considérée comme asymptomatique puisque les déficits ne sont pas assez importants pour être détectés par les tests standards comme le MMSE (Mini-Mental State Examination ; Folstein et al., 1975).

Les patients entrent ensuite dans une phase de troubles cognitifs légers (*i.e* MCI :Mild Cognitive impairment) où les premiers déficits cognitifs deviennent détectables en absence de

signes de démences. Le patient peut aussi présenter des troubles non-cognitifs comme l'isolement social ou la dysphorie (Förstl and Kurz, 1999).

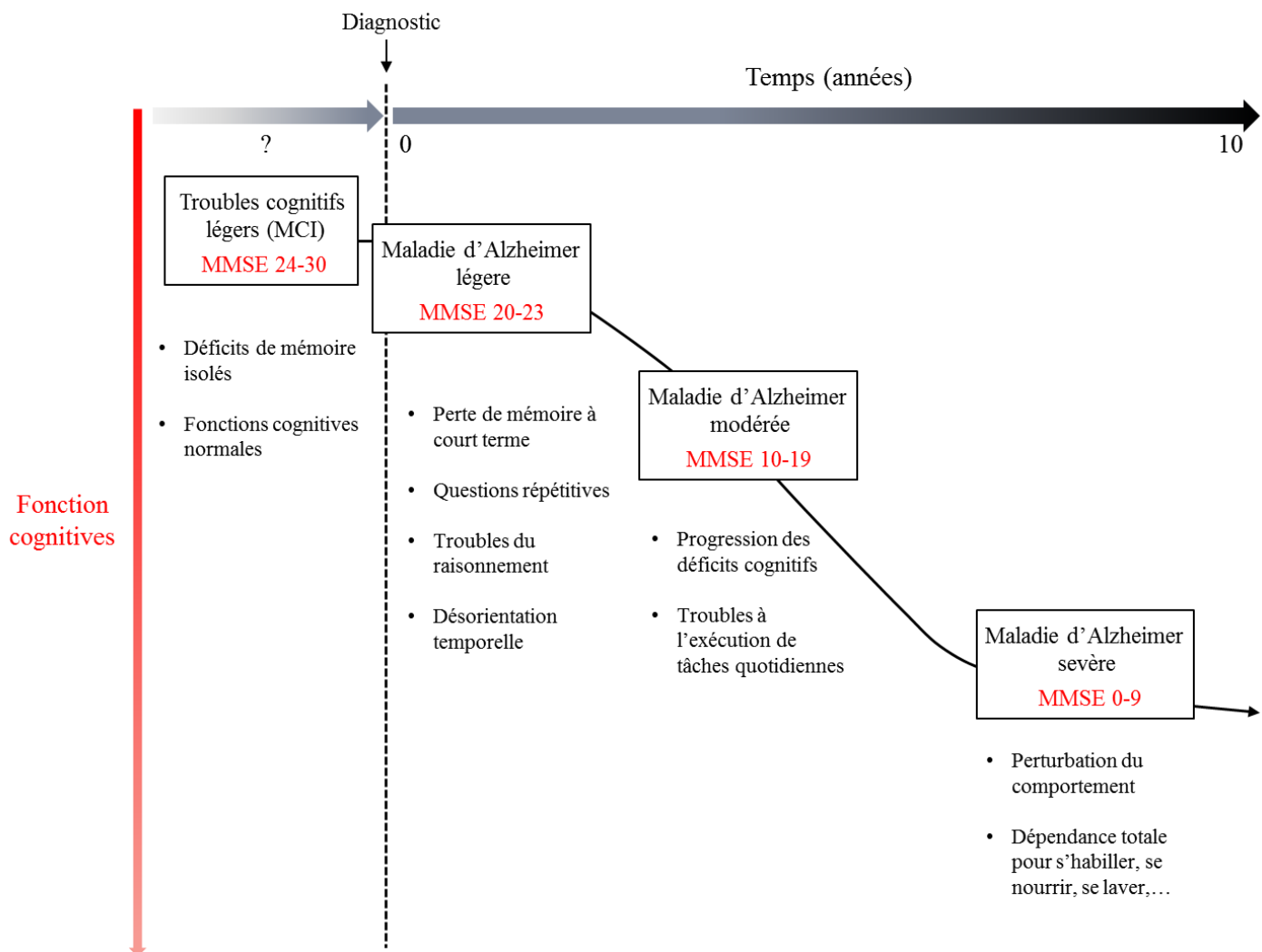


Figure 1. Progression clinique de la maladie d'Alzheimer.

MMSE = Mini-Mental Status Examination

(Modifié d'après Petrella et al., 2003)

Ces troubles sont décrits comme légers puisqu'ils n'interfèrent pas dans les activités de la vie quotidienne (Katz et al., 1963; Robert et al., 2010). Il existe plusieurs types de MCI : MCI amnésique, MCI non amnésique atteignant un domaine cognitif autre que la mémoire

(langage, domaine visuo-spatial, ...), MCI amnésique à déficits cognitifs multiples. Parmi ces trois types de MCI, celui de type amnésique a le plus fort pourcentage de risque de se convertir en MA (80% sur environ 6 ans ; Petersen et al., 2001). Le stade MCI de type amnésique est donc considéré comme l'étape prédéméntielle de la MA.

L'entrée dans la phase intermédiaire de la MA s'accompagne d'une progression de l'amnésie rétrograde, les patients commencent à perdre contact avec leur présent et ne conservent que les souvenirs les plus lointains (Beatty et al., 1988). Le patient éprouve des difficultés à reconnaître ses amis et sa famille. La perte du sens de l'orientation, de la situation dans le temps et l'espace conduit à une dépendance pour de nombreuses activités quotidiennes.

Lors de la phase avancée de la MA, le patient perd presque toutes ses facultés cognitives, les souvenirs les plus anciens disparaissent. Le patient est dans l'incapacité de communiquer de façon verbale ou de prendre soin de lui-même. Les capacités motrices sont presque nulles et nécessitent un alitement et souvent une entrée dans un établissement spécialisé. Très souvent le patient développe aussi des troubles psychiatriques, comme la paranoïa, des hallucinations ou un comportement agressif (Doody et al., 1995). Cette phase se termine par le décès du patient qui intervient en moyenne 5 ans après le diagnostic initial (Larson et al., 2004).

Les critères pour le diagnostic des démences dues à la MA sont relativement codifiés (McKhann et al., 2011). Tout d'abord, la démence est diagnostiquée par la présence de déficits au niveau de la mémoire. Le diagnostic de la démence due à une probable MA est réalisé par l'exclusion de toutes les autres causes possibles (démence à corps de Lewy, démence vasculaire, aphasie progressive primaire, démence frontotemporal, ...) et il est important de souligner qu'à l'heure actuelle, le diagnostic définitif de la MA est effectué uniquement *post-mortem*, basé sur un examen de marqueurs neuropathologiques.

B. Caractéristiques histo-pathologiques de la MA

Les changements morphologiques dans le système nerveux central (SNC) associés à la MA sont une forte atrophie corticale, une dégénérescence neuronale, une altération des connections synaptiques. D'un point de vue cellulaire, la maladie d'Alzheimer se caractérise

par un dépôt anormal de protéine β amyloïde au niveau extracellulaire (plaques amyloïdes) et une accumulation de la protéine Tau au niveau intracellulaire (dégénérescences neurofibrillaires ; Selkoe, 2002 ; Figure 2).

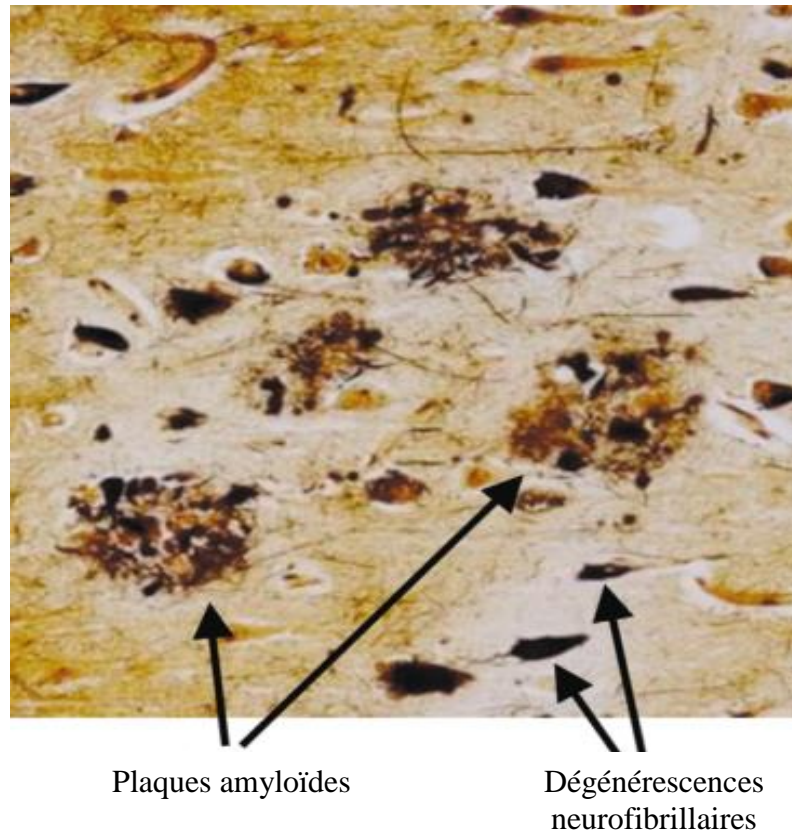


Figure 2. Caractéristiques cellulaires de la maladie d'Alzheimer

(Modifié d'après Blennow et al., 2006)

1. Hypothèse amyloïde : processus protéolytique d'APP

Les dépôts amyloïdes sont des dépôts extracellulaires d'un peptide de 4 kDA, le peptide amyloïde ($A\beta$). Ce peptide est formé dans les conditions physiologiques par clivage de la protéine précurseur de l'amyloïde (*i.e* amyloid precursor protein : APP ; Figure 3).

La protéine APP est une protéine transmembranaire exprimée ubiquitairement avec une très forte expression dans le cerveau et le rein (Selkoe, 1994). Cette protéine possède un court domaine cytoplasmique et un grand domaine extracellulaire dont les fonctions précises en conditions physiologique sont mal connues. Cependant certaines études montrent que l'APP pourrait jouer un rôle dans le trafic axonal (Gunawardena and Goldstein, 2001; Kamal et al., 2001), le transport vésiculaire (Kamal et al., 2001), la motilité cellulaire (Sabo et al., 2001; Sabo et al., 2003) et la modulation des fonctions synaptiques (Kamenetz et al., 2003). L'expression de l'APP est ubiquitaire et l'épissage différentiel de l'ARNm codant pour l'APP conduit à différentes isoformes dont trois sont majoritaires dans le cerveau: APP695 (neurones), APP751 et APP770 (cellules gliales). Cette protéine peut être sécrétée ou rester ancrée à la membrane. La forme ancrée à la membrane est largement majoritaire puisqu'elle représente environ 90% de l'APP totale. L'APP ancrée peut subir plusieurs clivages protéolytiques. Il existe trois principaux sites de clivage de l'APP impliquant un système enzymatique différent nommé sécrétase puisque la plupart des produits de ces clivages sont sécrétés (Mattson, 1997; Nunan and Small, 2002). Ces trois différentes sécrétases sont l' α -sécrétase, la β -sécrétase et la γ -sécrétase. Les différentes étapes du clivage de l'APP s'opèrent dans des compartiments cellulaires différents.

a) α -sécrétase

Le clivage par l' α -sécrétase se réalise dans le réseau trans-golgien et à la surface cellulaire. Le clivage à la surface membranaire est majoritaire et conduit à la libération du domaine extracellulaire des protéines transmembranaires clivées. Parmi les protéines possédant une activité α -sécrétase, les protéines de la famille ADAM ont particulièrement été étudiées (Asai et al., 2003). Les protéines de la famille ADAM sont des métalloprotéases transmembranaires possédant un domaine liant le zinc et un domaine de type désintégrine (Schlöndorff and Blobel, 1999). Les protéines ADAM 9, ADAM 10 et ADAM 17 clivent la protéine APP approximativement au milieu de la région A β , soit juste au-dessus du segment transmembranaire.

b) β -sécrétase

Le clivage par la β -sécrétase a lieu principalement dans l'appareil de Golgi, les vésicules de sécrétion et les endosomes. L'isoforme majoritaire dans le cerveau est la BACE 1 (B-site APP Cleaving Enzyme 1) ou Asp2. Cette sécrétase est une protéase à aspartate de la

famille des pepsines. Elle comprend un domaine N-terminal catalytique, un domaine transmembranaire et une queue cytoplasmique. BACE subit plusieurs modifications post-traductionnelles notamment la formation de trois ponts disulfures, qui différencie BACE des autres protéases à aspartate et semblerait être la raison de sa spécificité pour l'APP (Hussain et al., 1999).

c) γ -sécrétase

Le clivage par la γ -sécrétase intervient à la membrane cellulaire, dans les endosomes et minoritairement dans l'appareil de Golgi. La γ -sécrétase est un complexe enzymatique protéolytique composée de quatre sous-unités: la préséniline (PS), la nicastrine, APh-1 (anterior pharynx-defective 1) et PEN-2 (presenilin enhancer 2). PS, la sous-unité catalytique a deux homologues (PS1 et PS2). Les deux PSs sont clivées en cours de maturation par un mécanisme endoprotéolytique pour former un hétérodimère composé d'un fragment N-terminal et d'un fragment C-terminal (PS-NTF/PS-CTF) (Barthet et al, 2012). La γ -sécrétase est une protéase intramembranaire qui clive de nombreuses protéines transmembranaires de type I (c.a.d. ayant une extrémité C-terminal intracellulaire) au niveau de leur segment transmembranaire. Cette protéolyse scinde le substrat en deux produits : un domaine intracellulaire libéré dans le cytosol et un peptide correspond à la partie N-terminal du substrat clivé, dans le cas de l'APP, le peptide amyloïde.

d) Voies amyloïdogéniques et anti-amyloïdogéniques

Il existe deux voies principales de clivage de la protéine APP par les différentes sécrétases. La voie amyloïdogénique qui conduit à la formation du peptide A β et la voie anti-amyloïdogénique qui empêche la formation du peptide A β par clivage de l'APP au niveau de sa séquence. La formation d'A β nécessite le clivage successif de la protéine APP par la β -sécrétase puis la γ -sécrétase (Haass, 2004), alors que l'autre voie implique un clivage préalable de la protéine APP par l' α -sécrétase puis par la γ -sécrétase (Figure 3).

(1) Voie anti-amyloïdogénique

L' α -sécrétase clive la protéine APP approximativement au milieu de la séquence A β conduisant à la production d'un fragment soluble (sAPP α) au niveau extracellulaire et un fragment carboxy-terminal (α -CTF). Ces fragments sAPP α sont sécrétés au niveau

extracellulaire et le fragment restant α CTF est par la suite clivé par la γ -sécrétase pour libérer un peptide A β tronquée p3 qui ne serait pas pathogène (Haass et al., 1993). La γ -sécrétase génère aussi le "domaine intracellulaire de la protéine APP" (i.e AICD : APP IntraCellular Domain ; Gu et al., 2001) qui est libéré dans le cytosol et aurait un rôle dans la régulation de l'expression d'APP, conduisant à une reconstitution du stock d'APP (von Rotz et al., 2004).

(2) Voie amyloïdogénique : production d'A β

Un faible pourcentage de la protéine APP entre dans la voie amyloïdogénique, où elle est clivée par la β -sécrétase (BACE1 ; pour revue Vassar, 2004). Ce clivage libère un fragment soluble appelé sAPP β , et un fragment attaché à la membrane, C99 (ou β -CTF : β carboxy-terminal fragment). Ce fragment C99 est ensuite clivé par la γ -sécrétase entraînant la formation du peptide A β et de l'AICD (Figure 3, Figure 4). Le peptide A β est considéré comme un peptide spécifique du cerveau. En effet, bien que son précurseur soit exprimé ubiquitairement, les enzymes responsables de son clivage ne sont exprimées que dans certains tissus et dans certains types cellulaires. Par exemple, l'expression de BACE est spécifique au cerveau et est produite constitutivement par les neurones (Vassar et al., 1999). La spécificité régionale de BACE pourrait expliquer le tropisme marqué de la MA pour le cerveau. Plusieurs variants d'A β existent et dérivent d'un clivage différent de la γ -sécrétase. Ces différents peptides peuvent comporter de 36 à 43 acides aminés. Les 3 formes les plus présentes sont les formes A β ₄₀ (60%), A β ₃₈ (13%) et A β ₄₂ (13% ; Wiltfang et al., 2002). Dans une cellule saine, A β ₄₀ est 8 fois plus présent qu'A β ₄₂ (Gravina et al., 1995). La caractéristique principale d'A β ₄₂ par rapport à A β ₄₀ est sa plus grande propension à former des fibrilles d'A β . Cette forme est donc la plus pathogène et impliquée dans la formation de plaques dans la MA.

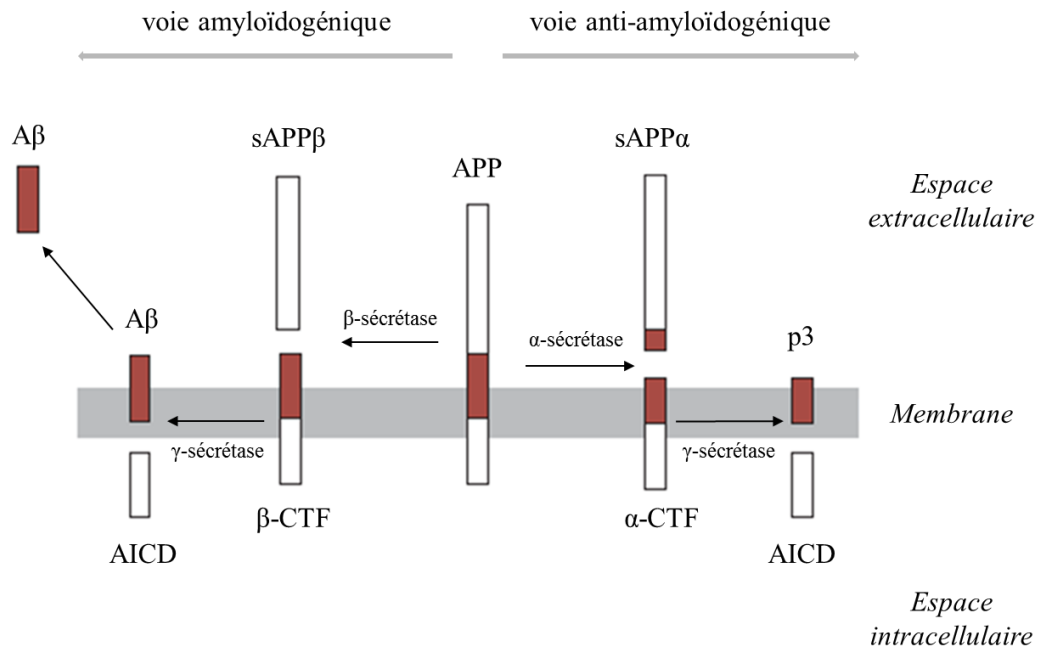


Figure 3. Processus protéolytique de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP).

Les flèches horizontales représentent les sites spécifiques de clivage d'APP par les protéases. Dans la voie amyloïdogénique, le clivage séquentiel de la protéine APP par la β -sécrétase et la γ -sécrétase libère un fragment soluble extracellulaire d'APP (sAPP β), un domaine intracellulaire carboxy-terminal de la protéine APP (AICD) et le peptide A β . Le clivage de l'APP par l' α -sécrétase dans la voie anti-amyloïdogénique empêche la formation d'A β et génère à la place un fragment soluble extracellulaire d'APP (sAPP α), un AICD et le peptide p3. Dans les deux voies, la γ -sécrétase clive un fragment carboxy terminal d'APP (α - ou β -CTF ; Modifié d'après Sheng et al., 2012)

2. Le peptide A β

a) Rôle(s) d'A β

Dans des conditions physiologiques, le peptide A β est retrouvé à des concentrations faibles dans le liquide céphalorachidien (LCR) et le plasma suggérant qu'A β pourrait avoir un rôle physiologique. A β est un peptide produit au cours du métabolisme neuronal mais sa ou ses fonction(s) physiologique(s) sont très mal connue(s). A β pourrait moduler l'activité synaptique en étant libéré au cours d'une forme de plasticité à long terme (Kamenetz et al., 2003) et sa concentration cérébrale est proportionnelle à l'activité synaptique (Bero et al., 2011). D'autre part, des concentrations physiologiques d'A β modulent de façon positive la potentialisation à long terme (PLT) dans l'hippocampe (Puzzo et al., 2008). D'autres rôles physiologiques d'A β ont été mis en évidence, notamment un rôle bénéfique dans la réponse

au stress et à l'infection (Giuffrida et al., 2009) et une implication dans l'homéostasie sanguine (Atwood et al., 1998).

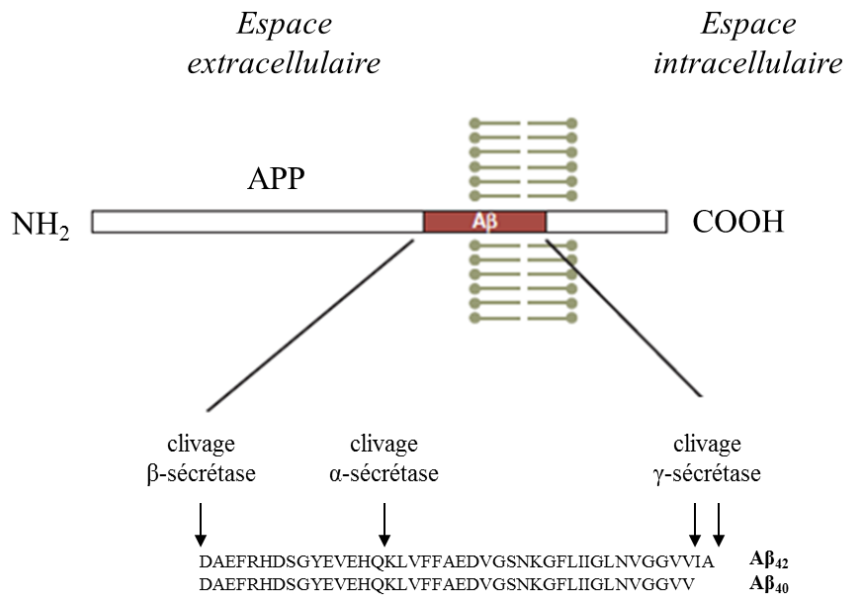


Figure 4. Formation du peptide Aβ.

Représentation des différents sites de clivage dans la séquence APP pour la formation du peptide Aβ. Le site de clivage de la γ-sécrétase diffère suivant le variant d'Aβ produit. (Modifié d'après Sheng et al., 2012)

b) Localisation d'Aβ

La localisation d'Aβ est encore très controversée. Un modèle propose qu'Aβ est retrouvé au niveau extracellulaire où il est libéré après le clivage de l'APP par la β-sécrétase et la γ-sécrétase. Ce modèle est soutenu par le fait que les plaques amyloïdes de la MA sont extracellulaires, et que l'Aβ peut être facilement détecté dans le milieu de culture de cellules où APP a été préalablement surexprimé. Néanmoins, plusieurs études montrent que la quantité d'Aβ dans le compartiment extracellulaire serait infime par rapport à la quantité produite et stockée dans les vésicules intracellulaires (Grbovic et al., 2003; Thinakaran and Koo, 2008).

c) Mécanismes de clairance et de dégradation d'Aβ

Une fois produit, Aβ est rapidement dégradé par trois mécanismes différents : une dégradation enzymatique, une phagocytose active, et le transport à travers la barrière hémato-encéphalique.

Plusieurs enzymes capables de dégrader l'Aβ ont été identifiées mais seules certaines sont capables d'avoir un rôle biologique *in vivo*, notamment l'IDE (enzyme dégradant l'insuline : insulin-degrading enzyme). L'IDE est localisée au niveau du cytosol sous forme soluble, avec une petite fraction liée aux membranes des peroxysomes, endosomes, et à la membrane plasmique. Elle clive de nombreuses petites protéines qui ont des séquences différentes mais partagent une propension à former des fibrilles en feuillets β (insulin, Aβ, glucagon, ...). L'IDE a une origine soit gliale soit neuronale et clive seulement la forme monomérique de l'Aβ extracellulaire et intracellulaire.

Les fibrilles d'Aβ peuvent se lier à plusieurs récepteurs membranaires à la surface des cellules microgliales et être ainsi phagocytées (Lee and Landreth, 2010). L'Aβ soluble peut aussi être internalisé mais la contribution exacte de la microglie et des macrophages dans la phagocytose *in vivo* est encore mal connue. L'Aβ est également détecté dans les endosomes et les granules lysosomiaux des astrocytes suggérant une activité phagocytaire de ces derniers (Lee and Landreth, 2010).

L'Aβ est également présent dans le sang et le liquide céphalo rachidien. L'Aβ est un peptide polaire et n'est donc pas capable de passer la BHE. Le transport d'Aβ à travers la BHE et à travers les vaisseaux sanguins est régulé par des nombreux récepteurs incluant notamment les récepteurs des produits de fin de glycation des protéines (RAGE : Receptor for Advanced glycation endproducts ; Deane et al. 2003). Les protéines se liant à Aβ comme l'apolipoprotéine E (ApoE), qui est nécessaire pour le transport du cholestérol dans la circulation sanguine, peuvent moduler le transport d'Aβ à la BHE (Zlokovic, 2011).

d) Augmentation du taux d'Aβ et formation de plaques

Dans la MA, les formes sporadiques et familiales ont pour caractéristiques communes une augmentation de la production du peptide Aβ (principalement Aβ₄₂) et la formation de plaques amyloïdes (Blennow et al., 2006). Néanmoins les mécanismes responsables de l'accumulation d'Aβ₄₂ par rapport à l'Aβ₄₀ restent mal connus. Dans le cas de la forme familiale, l'augmentation de la production d'Aβ₄₂ provient de mutations dans le gène APP et

dans les gènes codant pour les enzymes responsables du clivage de la protéine APP (Coulson et al., 2000). Dans le cas des formes sporadiques possédant l'allèle ApoE4, la production et le clivage d'APP semblent normaux, néanmoins des études montrent que certains mécanismes de dégradation d'Aβ sont défectueux (Kim et al., 2009) comme la capacité phagocytaire des cellules microgliales (Fiala et al., 2005) ou encore une diminution de l'expression et de l'activité de l'enzyme dégradante IDE (Cook et al., 2003). Enfin l'augmentation de la production d'Aβ pourrait venir de l'augmentation de l'activité de BACE (Yang et al., 2010).

L'accumulation pathologique d'Aβ conduit à son agrégation en oligomères puis en fibrilles pour enfin se déposer au niveau extracellulaire et former des plaques amyloïdes. Les oligomères d'Aβ ainsi que les plaques amyloïdes sont généralement considérés comme les substrats moléculaires des altérations neuronales dans la MA. Ainsi les oligomères d'Aβ semblent être à l'origine de déficits post-synaptiques notamment par des interactions avec de nombreux partenaires synaptiques dont les récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate ; Shankar et al., 2007). Les oligomères d'Aβ semblent également être à l'origine d'autres caractéristiques pathologiques de la MA comme l'hyperphosphorylation de la protéine Tau, la production de dérivés oxydatifs de l'oxygène, et la mort neuronale (Lambert et al., 1998; Ashe and Zahs, 2010).

La formation de plaques amyloïdes dans le tissu cérébral s'accompagne d'une réaction inflammatoire importante dans la pathogénicité de la MA. Il existe deux types de dépôts amyloïdes, les plaques primitives et les dépôts diffus:

- Les plaques primitives sont des dépôts sphériques de quelques dizaines de µm de diamètre dont le centre est constitué d'Aβ sous forme fibrillaire. Le cœur est entouré de prolongements neuronaux en dégénérescence (axones et dendrites dystrophiés) formant les plaques séniles, ou plaques neuritiques. Ces plaques sont entourées de cellules microgliales et astrocytes activés (Ishizuka et al., 1997; Xia et al., 1998).
- Les dépôts diffus sont des dépôts volumineux de quelques centaines de µm de diamètre mal délimité avec un aspect "cotonneux". Ces dépôts d'Aβ ne sont pas entourés de neurones en dégénérescence ou de cellules gliales activées. Ces dépôts diffus sont retrouvés au cours du vieillissement normal et sont considérés comme non pathogènes (Masters et al., 1985).

Les altérations synaptiques caractéristiques de la MA (changement de morphologie et diminution du nombre de synapses) sont le plus fortement observées au voisinage des plaques

amyloïdes (Koffie et al., 2009). Les plaques amyloïdes pourraient servir de "réservoir" d'oligomères solubles d'A β car il existe un équilibre dynamique entre la forme agrégée et la forme soluble (Martins et al., 2008). Ce mécanisme pourrait ainsi rendre compte du tropisme observé pour les altérations synaptiques au voisinage des plaques. D'autre part, les plaques amyloïdes constituent des foyers neuroinflammatoires importants par le recrutement de cellules gliales qui amplifient la neuroinflammation en libérant des facteurs délétères pour les neurones (Veerhuis et al., 1999; Lue et al., 2001; Gibbons and Dragunow, 2006; Block et al., 2007).

3. Hyperphosphorylation de la protéine Tau intracellulaire

La deuxième caractéristique histo-pathologique de la MA est l'hyperphosphorylation d'une protéine du cytosquelette, la protéine Tau. L'accumulation de la protéine Tau hyperphosphorylée dans les neurones est une étape clé dans la pathogénèse de la MA. Bien qu'il semblerait que l'implication de la protéine Tau dans le développement de la MA se déroule en aval de la production d'A β (Lewis et al., 2001; Rapoport et al., 2002), les déficits cognitifs et la dégénérescence neuronale apparaissent mieux corrélés à la protéine Tau qu'à l'A β (Arriagada et al., 1992; Karran et al., 2011).

La protéine Tau appartient à la famille des protéines associées aux microtubules (Microtubule-associated proteins : MAP). Elle est principalement exprimée dans les neurones où elle joue un rôle important dans l'assemblage des monomères de tubuline en microtubules qui participent au cytosquelette. En régulant l'assemblage des microtubules, la protéine Tau module l'organisation fonctionnelle des neurones et particulièrement la morphologie, la croissance et la polarité axonale (Buée et al., 2000). La protéine Tau possède plusieurs sites de phosphorylation et les propriétés de liaison aux microtubules de Tau sont dépendantes de son état de phosphorylation. La phosphorylation de la protéine Tau entraîne une diminution de son affinité pour les microtubules alors que l'absence de phosphorylation augmente cette affinité. Dans la MA, la protéine Tau hyperphosphorylée s'accumule et forme des agrégats entraînant une déstabilisation des microtubules et donc du cytosquelette. Cette instabilité de l'architecture du neurone entraîne sa dégénérescence (Figure 5).

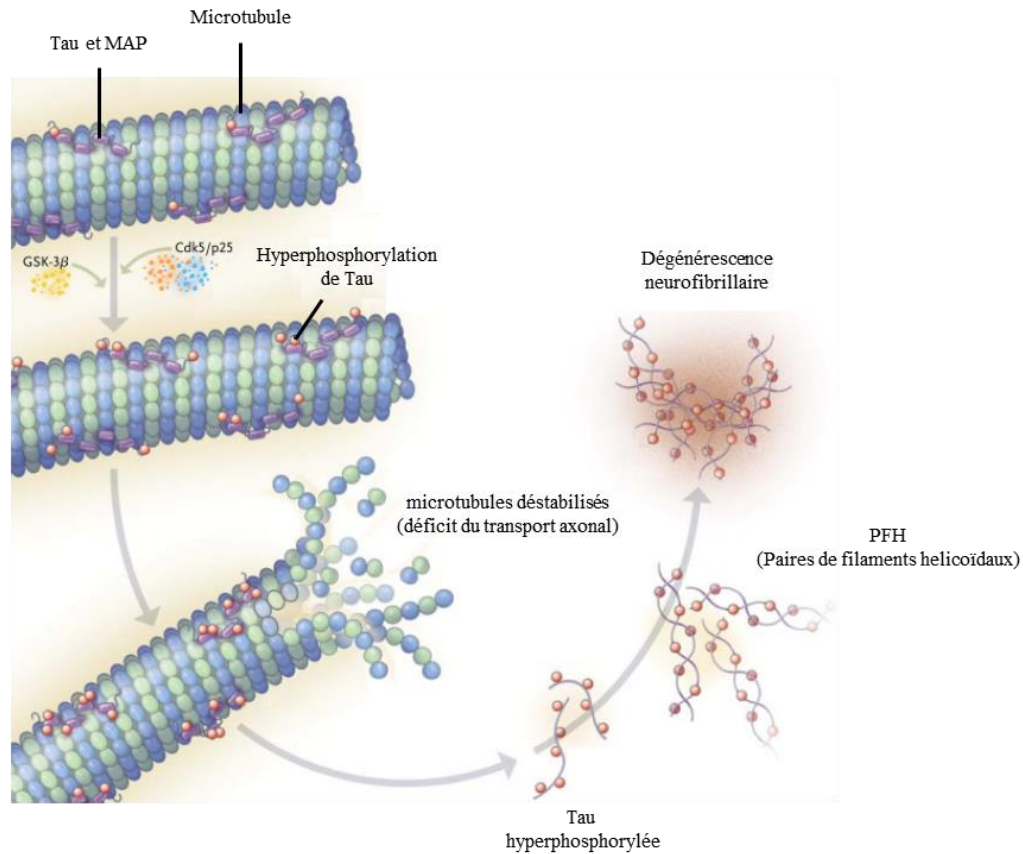


Figure 5. Formation des dégénérescences fibrillaires par hyperphosphorylation de la protéine Tau.

La protéine Tau est phosphorylée par la glycogène synthase kinase 3 (GSK-3 β) et par une kinase dépendante de la cycline (cdk5) et sa sous-unité activatrice p25. L'hyperphosphorylation de la protéine Tau entraîne une déstabilisation des microtubules et la formation de filaments hélicoïdaux qui vont s'agréger en provoquant une dégénérescence neurofibrillaire. (Modifié d'après Querfurth and Laferla, 2010)

Dans "l'hypothèse amyloïde", la mort cellulaire et l'hyperphosphorylation de la protéine Tau sont des conséquences de l'accumulation d'A β . Le lien de causalité entre l'accumulation d'A β et les agrégats de Tau est encore très controversé. *In vitro* A β induit la phosphorylation de Tau, mais Tau peut aussi former des agrégats en absence de pathologies liées à l'A β comme par exemple dans les tauopathies (démence fronto-temporale ; Ballatore et al., 2007). Dans les modèles murins amyloïdes de la MA qui ne développent pas de dégénérescences neurofibrillaires, la suppression de la protéine Tau endogène diminue la toxicité induite par l'A β par des mécanismes encore mal connus (Roberson et al., 2007; Ittner et al., 2010; Roberson et al., 2011). Il n'existe que très peu de données concernant des effets éventuels de la protéine Tau concernant la physiologie et la fonctionnalité synaptique.

C. Formes sporadiques et familiales de la MA

Deux formes de MA sont décrites : sporadique et familiale. Pour la forme sporadique, les causes sont largement inconnues même si certains travaux font état d'une susceptibilité génétique (Saunders et al., 1993; Farrer et al., 1997; Lambert and Amouyel, 2007). En revanche la forme familiale est une forme héréditaire pour laquelle des mutations dans certains gènes ont été clairement identifiées (Kang et al., 1987; Schellenberg et al., 1992; Levy-Lahad et al., 1995; Tang and Gershon, 2003). Les cas de forme familiale sont très rares (environ 5% des cas décrits) et n'ont été identifiés que dans un petit nombre de familles où plusieurs générations ont été affectées. La forme sporadique est très largement majoritaire (90-95% des cas) et de nombreux facteurs de risques ont été incriminés.

1. Forme sporadique : facteurs de risques

Age

Le principal facteur de risque de la MA est l'âge. La prévalence de la démence est de moins d'1 % pour les personnes âgées entre 60 et 64 ans et ce chiffre augmente de façon exponentielle pour atteindre de 24 % à 33 % pour les personnes âgées de 85 ans et plus (Ferri et al., 2005).

Sexe

L'étude PAQUID révèle qu'après 75 ans, la population féminine est notablement plus atteinte que la population masculine (Dartigues et al., 1991; Dubois, 2009). L'influence du sexe reste cependant très controversée puisque ces données peuvent être liées aux différences d'espérance de vie entre les hommes et les femmes ainsi que les pathologies associées, différentes chez les deux sexes. Certaines études suggèrent que la différence de prévalence homme/femme serait due à un rôle neuroprotecteur des androgènes (Dubal and Wise, 2002) absent chez la femme (Paganini-Hill and Henderson, 1994).

Antécédents familiaux et gènes de susceptibilités

Les personnes ayant un parent, une sœur ou un frère atteint de la MA, présentent 3.5 fois plus de risques de développer la MA (Green et al., 2002). Dans le cas de deux parents de premier degré atteint de la MA, le risque monte à 7.5 fois plus de risque de développer la MA

(van Duijn et al., 1991). L'augmentation de prévalence dans le cas d'une parenté au premier degré peut être expliquée par la transmission d'un gène de susceptibilité de la MA dont le plus commun est le gène ApoE4.

Il existe plusieurs gènes de susceptibilité pour le développement de la MA. Ces gènes de susceptibilité sont des gènes qui ne déclenchent pas la maladie à eux seuls mais qui combinés à des facteurs environnementaux augmentent la prévalence pour la maladie. A ce jour 19 *loci* de susceptibilité ont été référencés (Lambert et al., 2013). Le premier gène de susceptibilité découvert est le gène ApoE qui code pour l'apolipoprotéine E. Cette protéine est nécessaire pour le transport du cholestérol dans la circulation sanguine. Il existe trois isoformes du gène ApoE (e2, e3 et e4). L'isoforme e3 est la plus communément retrouvée dans la population, e2 et e4 étant beaucoup plus rares. L'isoforme e3 ne semble pas affecter les risques de développer la MA alors que l'isoforme e2 semble réduire ce risque. L'isoforme e4 augmenterait significativement le risque de développer la MA. Parmi les personnes diagnostiquées comme atteintes de la MA, 40 à 65% possèdent 1 ou 2 copies du gène ApoE4 (Saunders et al., 1993; Farrer et al., 1997) ce qui en fait le gène de susceptibilité le plus commun dans les formes sporadiques de la MA.

Diabète de type 2

L'hyperinsulinémie observée dans le diabète de type 2 potentialiserait le dépôt de plaques amyloïdes dans l'hippocampe et donc à terme sa régression (Qiu et al., 1998). Cette hypothèse est sous-tendue par le fait que l'insuline et l'Aβ sont des substrats de l'enzyme IDE (Insulin-Degrading Enzyme ; Qiu et al., 1998). En conditions physiologiques, IDE clive indifféremment l'insuline et l'Aβ. Au cours du diabète de type 2, la quantité d'insuline augmentant, IDE va privilégier son clivage au détriment de celui l'Aβ dans l'hippocampe. Il en résulte une augmentation d'Aβ qui entre en compétition avec l'insuline pour ses propres récepteurs. Avec cette forte dégradation d'insuline et la compétition avec l'Aβ pour la liaison aux récepteurs, le métabolisme énergétique dans l'hippocampe se retrouve perturbé entraînant *in fine* une perturbation des facultés cognitives (Pearson-Leary and McNay, 2012).

Obésité

Tout comme pour le diabète de type 2, l'obésité est un facteur de risque pour le développement de la maladie d'Alzheimer en favorisant la résistance à l'insuline (Kivipelto et al., 2005). La désensibilisation des récepteurs à l'insuline entraîne une diminution du

métabolisme du glucose dans l'hippocampe pouvant être à l'origine de troubles cognitifs (Hoyer et al., 1994; Henneberg and Hoyer, 1995). Néanmoins une étude récente réalisée sur un modèle murin de la MA basé sur la surexpression de la protéine Tau (THY-Tau22; Leboucher et al., 2013) rapporte que l'obésité potentialiserait des troubles cognitifs indépendamment de la résistance à l'insuline.

Tabagie

Une consommation quotidienne de 40 cigarettes entre 50 et 60 ans augmente d'un facteur 2 le risque de développer la MA (Rusanen et al., 2011). Cette prévalence augmentée est associée à la génération de radicaux libres et/ou à la dégradation du système immunitaire (Traber et al., 2000).

2. Forme familiale : preuves génétiques

Trois gènes ont été identifiés comme étant la cause de la MA lorsque étant mutés: PS1, PS2 et APP. Ces trois gènes peuvent contenir une ou plusieurs mutations. La première mutation découverte dans le gène APP (Kang et al., 1987) fut la mutation de Londres (London mutation ; Goate et al. 1987). Depuis, de nombreuses autres mutations dans le gène APP ont été découvertes comme par exemple les mutations suédoises (Swedish mutations; Mullan et al., 1992) dont le résultat final est une augmentation du clivage de la protéine APP par la β -sécrétase conduisant à une augmentation de la synthèse du peptide A β (Citron et al., 1992; Suzuki et al., 1994). Les mutations des gènes codant pour les présénilines (PS1 et PS2), sous-unités catalytiques du complexe γ -sécrétase, sont aussi responsables de formes familiales (Schellenberg et al., 1992; Levy-Lahad et al., 1995). Les mutations sur les gènes PS1 et PS2 sont plus nombreuses que sur le gène APP (environ 20 pour APP contre près de 200 pour PS1 et PS2; Tang and Gershon, 2003). Les mutations ponctuelles sur les gènes PS1 et PS2 perturbent le clivage d'APP et augmentent la production de la forme A β_{42} (Duff et al., 1996; Price and Sisodia, 1998).

D. Modèles murins de la maladie d'Alzheimer

Afin d'étudier la MA, plusieurs lignées de souris transgéniques basées sur les formes familiales de la MA ont été développées, soit par une seule mutation dans le gène APP ou par

une double mutation dans le gène APP et dans le gène PS1. Ces modèles murins expriment le gène APP avec une mutation familiale sous le contrôle d'un promoteur exogène très actif ce qui conduit à une surexpression de la protéine APP.

La première approche a été l'utilisation d'un promoteur PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes, *i.e* Platelet-derived growth factor) pour exprimer un transgène APP contenant une mutation familiale de la MA (Games et al., 1995). Ce promoteur est fortement exprimé dans le SNC et entraîne une forte expression de transgènes dans les neurones. Chez ces animaux, le taux d'ARNm codant pour l'APP est multiplié par un facteur 18 et celui d'A β par un facteur 10. Les plaques amyloïdes apparaissent entre 6 et 9 mois pour connaître une forte augmentation entre 12 et 15 mois (Reilly et al., 2003). En parallèle, ces animaux développent des déficits cognitifs et une perte synaptique dans l'hippocampe (Chen et al., 2000; Dodart et al., 2000).

Une des lignées transgéniques les plus utilisées, la Tg2576, est basée sur la surexpression d'un transgène APP humain contenant la mutation suédoise de la MA (K670N/M671L) sous le contrôle d'un promoteur prion de hamster (Hsiao et al., 1996). La souris Tg2576 surexprime l'APP humaine jusqu'à six fois le taux normal. Les plaques amyloïdes sont clairement visibles à 13 mois et des déficits mnésiques comme la mémoire spatiale mesurée par le test de la piscine de Morris, apparaissent à partir de 9 mois. Il est important de noter que la surexpression seule d'APP sauvage est sans effet et que les modèles transgéniques utilisent un promoteur fort pour surexprimer APP muté. En raison des différents rôles de l'APP dans le système nerveux, la question s'est posée de savoir si les déficits cognitifs et comportementaux observés dans les souris transgéniques étaient dus à la pathologie liée à la mutation familiale et à la production accrue d'A β , ou simplement dû à une surexpression massive de la protéine APP.

Pour répondre à cette question et limiter la surexpression d'APP, des lignées "knock-in" avec introduction de mutation humaine dans le gène murin APP ont été créées. Dans ces lignées, l'allèle muté est sous le contrôle du promoteur natif de l'APP et donc l'expression d'APP reste à un niveau physiologique.

Les souris simples transgéniques APP développent massivement et tardivement des plaques amyloïdes entre 12 et 15 mois (Reilly et al., 2003). Afin d'augmenter la concentration d'A β ₄₂ et donc accélérer l'apparition de plaques amyloïdes dans le cerveau, des modèles doubles transgéniques avec une mutation suédoise d'APP et une mutation humaine de PS1

(Hu PS1-A246E) ont été développés (Borchelt et al., 1996). Ces animaux ont été générés soit par co-injection de deux plasmides contenant chacun un gène muté soit par injection d'un seul plasmide contenant les deux gènes mutés (stratégie bicistronique; Jankowsky et al., 2001). Ces souris présentent des plaques amyloïdes vers 9 mois avec un dépôt massif vers 12 mois (Borchelt et al., 1997). La mutation PS1-A246E étant faiblement pathogénique, une nouvelle lignée de souris double transgénique a été créée en introduisant un variant PS1 hautement pathogénique le PS1-ΔE9 (Jankowsky et al., 2001). Ce modèle de souris APP^{swe}/PS1-ΔE9 présente un ratio Aβ₄₂/Aβ₄₀ élevé. L'apparition des plaques amyloïdes commence plus tôt, c'est à dire vers 6 mois au lieu de 9 mois pour la souris APP^{swe}/PS1-A246E (Jankowsky et al., 2004). Toujours dans le but d'accélérer l'apparition des dépôts amyloïdes et d'augmenter le ratio Aβ₄₂/Aβ₄₀ en faveur d'Aβ₄₂, une lignée de souris quintuple transgénique possédant trois mutations APP (mutation suédoise, Floride et Londres) et deux mutations PS1 a été créée (Oakley et al., 2006). Ces souris présentent des plaques amyloïdes et une gliose dès l'âge de 2 mois, suivi d'une perte de marqueurs synaptiques, de troubles cognitifs et d'une mort neuronale (Oakley et al., 2006). Il convient de remarquer que ces souris transgéniques, bien qu'utiles pour la compréhension des effets de l'accumulation d'Aβ et de l'implication des plaques amyloïdes dans la physiopathologie de la MA ne développent pas l'un des signes cardinaux de la MA, des dépôts intracellulaires de la protéine Tau hyperphosphorylée.

Sur ce constat, une lignée de souris triple transgénique a été créée et présente la mutation suédoise sur le gène codant pour la protéine APP, la mutation PS1_{M146V} et la mutation sur le gène codant pour la protéine Tau (TAU_{P301L}; Oddo et al., 2003). Cette lignée exprime donc APP et Tau mutés à partir de transgènes exogènes combinés à l'expression de PS1 muté endogène. Les plaques amyloïdes sont observées à partir de 6 mois et les dépôts intracellulaires de Tau sont observés à partir de 12 mois. Ces souris développent des dysfonctionnements synaptiques au cours du temps ainsi que des déficits dans la mémoire spatiale (Billings et al., 2005). Néanmoins ces lignées de souris restent très controversées puisque chez l'homme, les formes familiales de la MA ne possèdent pas de mutations sur le gène codant pour la protéine Tau. Pour cette raison l'utilisation de souris mutées sur les gènes APP et/ou PS1 semble plus proche de la pathologie humaine même si l'ensemble des symptômes de la MA n'est pas observé.

E. Stratégies cliniques

A ce jour, il n'existe aucun traitement curatif de la MA. En revanche de nombreuses pistes pour des traitements symptomatiques sont proposées: modulation de la neurotransmission excitatrice, ciblage de la protéine Tau ou du peptide A β , modulation de l'homéostasie calcique, stratégies anti-inflammatoires (pour revue Anand et al., 2014). Dans ce chapitre nous avons décidé de nous intéresser plus particulièrement à la modulation de la neurotransmission car à ce jour les seuls traitements autorisés en clinique humaine ciblent ces mécanismes. Les seules molécules autorisées dans ce cadre par l'US Food and Drug Administration (FDA) sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) et un antagoniste non compétitif des récepteurs glutamatergiques de type NMDA, la mémantine.

L'utilisation d'inhibiteurs de l'AChE est basée sur "l'hypothèse cholinergique du vieillissement" (Bartus et al., 1982). D'après cette hypothèse, une perte massive de la fonction cholinergique dans le SNC est à l'origine des symptômes cognitifs associés à la MA. Les inhibiteurs de l'AChE diminuent la dégradation de l'acétylcholine dans la fente synaptique et restaurent ainsi partiellement la neurotransmission cholinergique. Dans l'hippocampe, les récepteurs cholinergiques sont exprimés dans les neurones principaux et les interneurons inhibiteurs aussi bien au niveau présynaptique que postsynaptique. L'augmentation de la concentration d'acétylcholine va permettre de retrouver, de façon limitée dans le temps, une certaine fonctionnalité modulateur du système cholinergique déficient dans la MA (Drever et al., 2011).

La neurotransmission glutamatergique est également impactée dans la MA mais à des stades plus tardifs. Les neurones glutamatergiques jouent un rôle clé dans la plasticité synaptique, la cognition, la mémoire et l'apprentissage. Un "cycle du glutamate" entre les éléments pré et postsynaptiques ainsi que les astrocytes détermine la concentration de glutamate disponible pour les récepteurs. Dans la MA, ce cycle peut être perturbé à de multiples niveaux et entraîner une augmentation délétère de glutamate extracellulaire responsable d'excitotoxicité (Revett et al., 2013). Certaines études suggèrent que l'activation des récepteurs NMDA entraîne la production d'A β qui en retour se lie et active les récepteurs NMDA (Dinamarca et al., 2012; Revett et al., 2013). La mémantine est un antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA qui agit en se fixant sur la configuration ouverte du canal c'est à dire activée par la liaison du glutamate. L'augmentation tonique de la concentration de

glutamate observée dans la MA active de manière continue les récepteurs NMDA ce qui provoque un flux entrant de calcium dans les neurones et une excitotoxicité. La mémantine permet de bloquer l'activation persistante des récepteurs NMDA responsable de l'excitotoxicité mais ne bloque pas ou peu une forte activation résultant d'une activité électrique de type potentiel d'action (PA).

Le rôle des récepteurs de la sérotonine (5-HT) et de la transmission sérotoninergique dans la MA a été étudié suite à l'observation d'une très forte diminution du nombre des récepteurs 5-HT et de la densité des neurones positifs à la sérotonine dans le cerveau de patients atteints de la MA (Reynolds et al., 1995). Les récepteurs 5-HT sont exprimés dans les neurones glutamatergiques, cholinergiques et GABAergiques ce qui indique que l'innervation sérotoninergique est capable de moduler le fonctionnement des autres systèmes de neurotransmission (King et al., 2008). De nombreux composés sérotoninomimétiques déjà utilisés en clinique humaine sont étudiés dans le cadre de la MA comme monothérapie ou associés aux inhibiteurs de l'AChE pour leurs capacités à restaurer certaines facultés cognitives, les antagonistes 5-HT₆ (Hirst et al., 2006) ou les agonistes 5-HT₄ (Shen et al., 2011).

II. Neuroinflammation

En parallèle des deux signes cardinaux, *i.e.* présence de plaques amyloïdes et hyperphosphorylation de la protéine Tau, la maladie d'Alzheimer s'accompagne d'une forte composante inflammatoire cérébrale principalement localisée dans le cortex préfrontal et l'hippocampe (Heneka and Obanion, 2007; Tan et al., 2007; Meraz-Ríos et al., 2013a).

A. Neuroinflammation

La neuroinflammation est définie comme l'activation du système immunitaire inné cérébral en réponse à une lésion directe du tissu cérébral comme un traumatisme crânien ou une ischémie, à la pénétration d'agents pathogènes de type viral ou bactérien issus de la périphérie ou encore à des molécules inflammatoires du soi. La neuroinflammation se caractérise notamment par une forte activation des cellules gliales, astrocytes et microglie, qui

en réponse produisent et libèrent une myriade de molécules inflammatoires comme des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-11 et TNF α), des chémokines, des facteurs du complément et des prostanoïdes (Eikelenboom et al., 1994). Dans les cas sévères, la neuroinflammation peut s'accompagner d'une destruction partielle voire totale de la barrière hémato-encéphalique avec une pénétration consécutive de leucocytes infiltrants. Les maladies neurodégénératives s'accompagnent d'une neuroinflammation dont le *Primum movens* est difficile à déterminer avec certitude. Dans le cas de la MA, des données *in vitro* suggèrent que l'A β pourrait initier une réaction neuroinflammatoire via les cellules microgliales et les astrocytes (Mrak et al., 1996; Akiyama et al., 2000; Lindberg et al., 2005).

B. Neuroinflammation et MA

La neuroinflammation est considérée depuis une dizaine d'années comme une caractéristique pathologique importante de la MA (Akiyama et al, 2000; Mrak and Griffin, 2005, Heneka 2006; Wyss-Coray 2006; Heneka and Obanion 2007). La découverte de l'importance de la composante neuroinflammatoire provient essentiellement de données épidémiologiques rapportant une prévalence diminuée de 40 à 70% chez des patients traités chroniquement par des anti-inflammatoires non stéroïdiens pour d'autres pathologies comme l'arthrite rhumatoïde (McGeer et al., 1996; in t' Veld et al., 2001; Breitner and Zandi, 2001). Sur le plan moléculaire, la présence de plaques amyloïdes et les agrégats de protéine Tau vont recruter les cellules microgliales et les astrocytes qui libèrent à leurs tours des médiateurs inflammatoires. L'activation chronique et prolongée de ces cellules va entraîner la destruction des neurones adjacents notamment par la libération de produits toxiques comme les dérivés réactifs de l'oxygène (*i.e* Reactive Oxygen Species, ROS), l'oxyde nitrique (NO), et les enzymes protéolytiques (Akiyama et al, 2000; Mrak and Griffin, 2005, Heneka 2006; Wyss-Coray 2006; Heneka and Obanion 2007). De plus ces médiateurs inflammatoires vont en retour augmenter la production d'APP ainsi que son clivage favorisant ainsi la production d'A β ₄₂ (Sastre et al., 2003, 2006). L'A β produit va activer l'expression de cytokines inflammatoires dans les cellules gliales contribuant ainsi à la genèse d'un cercle vicieux (Griffin et al., 1998; Lindberg et al., 2005).

1. Les acteurs de la neuroinflammation : microglie et astrocytes

a) Microglie

Les cellules microgliales sont les cellules cérébrales de l'immunité innée et sont à la fois les sentinelles et la première ligne de défense du cerveau. Les cellules microgliales matures dérivent des progéniteurs myéloïdes primitifs qui peuplent la vésicule vitelline avant le 8^e jour embryonnaire puis migrent ensuite dans le SNC (Ginhoux et al., 2010). Les cellules microgliales restent sous forme améboïde jusqu'au 14^e jour où leur morphologie change pour se ramifier et devenir des cellules quiescentes. En l'absence de lésion, les cellules microgliales ont une distribution uniforme dans la substance grise, où chaque cellule, à l'aide de ses nombreux processus, va explorer et inspecter les microdomaines l'entourant. A la suite d'un traumatisme, d'une ischémie ou de la pénétration de pathogènes, les cellules microgliales sont activées. Cette activation se traduit par un fort remaniement morphologique avec une rétraction de leurs processus, une augmentation de la taille du soma et un retour au phénotype améboïde. Cette modification de phénotype est accompagnée par une prolifération et une migration de ces cellules vers le site endommagé. Les cellules microgliales vont libérer des facteurs solubles (cytokines pro-inflammatoires...) pour éliminer l'élément pathogène puis phagocyter les débris et les cellules mortes achevant ainsi la phase d'activation.

Dans la maladie d'Alzheimer, la microglie activée est retrouvée en grande quantité autour des plaques amyloïdes (Glenner et al., 1984; Cagnin et al., 2001). *In vitro*, la microglie activée est capable de phagocyter le peptide A β mais la présence de fibrilles amyloïdes n'a pas pu être mise en évidence dans le compartiment lysosomal de cellules microgliales dans des tissus de patients atteints de la MA (Frackowiak et al., 1992; D'Andrea et al., 2004). *In vivo* les cellules microgliales seraient donc capables de phagocyter le peptide A β mais seraient dans l'impossibilité de phagocyter les fibrilles d'A β . En revanche, les macrophages périphériques recrutés dans le SNC par des cytokines spécifiques sont capables de traverser la BHE et permettent la phagocytose des peptides amyloïdes (Wisniewski et al., 1991; Akiyama et al., 1996).

b) Astrocytes

Les astrocytes sont des cellules macrogliales qui dérivent d'une population hétérogène de cellules progénitrices dans le neuroépithélium du SNC en développement. Il existe deux différents types d'astrocytes, les astrocytes protoplasmiques dans la substance grise et les

astrocytes fibreux dans la substance blanche. Chaque astrocyte occupe un microdomaine spécifique, où l'arborisation d'une cellule ne se superpose pas avec l'arborisation de la cellule voisine (Bushong et al., 2002). Les astrocytes sont fonctionnellement connectés entre eux par des jonctions communicantes formant un immense syncytium glial (un astrocyte peut contacter jusqu'à 100 000 autres astrocytes; Bushong et al. 2002) dont les fonctions vont de l'homéostasie ionique à la régulation fine de l'activité électrique de différents réseaux neuronaux (Araque et al., 1999; Perea et al., 2009). Les pieds astrocytaires sont aussi en contact avec les capillaires sanguins participant ainsi à la formation de la BHE (Kettenmann and Verkhratsky, 2008). En conditions basales, les astrocytes sont responsables du maintien de l'homéostasie ionique, l'apport énergétique et la régulation de la transmission synaptique. L'activation astrocytaire qui résulte d'un stress cérébral provoque une hypertrophie ainsi qu'une surexpression d'une protéine du cytosquelette, la protéine acide fibrillaire gliale (i.e GFAP : Glial Fibrillar Acidic Protein ; Panickar and Norenberg, 2005).

Dans les stades précoces de la MA, les astrocytes activés sont principalement localisés dans deux régions : la couche moléculaire du cortex cérébral, et à proximité des plaques amyloïdes dans la couche de cellules pyramidales (Nagele et al., 2004). Les astrocytes sont capables de phagocyter et dégrader l'Aβ *in vitro* (Koistinaho et al., 2004). De plus il a été montré que les astrocytes régulent la fonction de phagocytose de la microglie sur les agrégats d'Aβ *in vitro* et *in vivo* (Terwel et al., 2011). Les astrocytes expriment à leur surface membranaire des récepteurs capables de lier l'Aβ comme les récepteurs des produits terminaux de glycations (i.e RAGEs : Receptor for advanced glycation endproducts), le récepteur Toll-like de type 4 (TLR4), des proteoglycans,... (Wyss-Coray et al., 2003; Medeiros and LaFerla, 2013).

Dans les astrocytes activés, le facteur nucléaire kappa B (i.e Nuclear Factor Kappa B : NF-κB) contrôle la sécrétion de chémokines et de molécules d'adhésion favorisant l'infiltration de lymphocytes périphériques et l'augmentation de la réponse inflammatoire (Moynagh, 2005). Ce processus devient un mécanisme d'autorégulation entraînant la dégénérescence neuronale (Moynagh, 2005; Meraz-Ríos et al., 2013b). Les astrocytes activés peuvent aussi exprimer des facteurs associés à l'inflammation comme le S100β qui va entraîner la formation d'excroissances neuritiques et dont l'expression est corrélée avec le nombre de neurites dystrophiques au niveau des plaques amyloïdes chez les patients atteints de la MA (Mrak et al., 1996).

2. Les médiateurs de l'inflammation

Les cytokines constituent une famille de médiateurs inflammatoires et immunorégulateurs, sécrétées principalement par les cellules effectrices du système immunitaire (Lymphocytes-T, macrophages, Lymphocytes-NK,...) ainsi que par certaines cellules non-immunitaires (fibroblastes, cellules de Schwann, neurones, cellules gliales). Les cytokines déclenchent une myriade d'effets biologiques comme la stimulation ou l'inhibition de la prolifération cellulaire, l'apoptose, la croissance cellulaire, les réponses inflammatoires, la régulation de l'expression des protéines membranaires (Cavaillon, 2001). La fonction principale des cytokines est la régulation de la différenciation des lymphocytes T à partir de cellules indifférenciées. Ces protéines régulatrices comprennent les interleukines, les interférons, les facteurs de nécrose tumorales (i.e TNF : Tumor Necrosis Factor), et certains facteurs de croissance. En ce qui concerne la réaction inflammatoire, les cytokines sont divisées, par raison de simplification (Cavaillon, 2001), en deux groupes distincts, les cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF α ,...) et les cytokines anti-inflammatoires (IL-4, IL-11, IL-13). Les cytokines pro-inflammatoires initient la réaction inflammatoire pour combattre efficacement l'agent pathogène et les cytokines anti-inflammatoires ont pour but de résoudre la réaction inflammatoire.

Les concentrations de cytokines pro-inflammatoires comme IL-1 β , IL-6, TNF α , sont très élevées dans le liquide céphalorachidien et les tissus des patients atteints de la MA (Blum-Degen et al., 1995; Tarkowski et al., 2002; Mrak and Griffin, 2005; Jiang et al., 2011). Les modèles animaux surexprimant APP ont permis de déterminer une corrélation entre le nombre d'agrégats d'A β et des concentrations élevées de cytokines inflammatoires. Cette corrélation pourrait être expliquée par la réaction inflammatoire chronique visant à retirer les plaques et autres débris amyloïdes du cerveau (Town et al., 2005).

III. Médiateurs lipidiques : Les Prostaglandines

Les médiateurs lipidiques (prostanoïdes, leucotriènes, facteur d'activation plaquettaire) sont également des médiateurs importants de l'inflammation. Ils sont produits par le métabolisme de l'acide arachidonique. Leur synthèse et leur libération sont régulées par les cytokines inflammatoires (Ivanov and Romanovsky, 2004; Murakami and Kudo, 2004).

A. Synthèse de prostaglandines

Les prostaglandines et les thromboxanes forment la famille des prostanoïdes. Ce sont des métabolites de l'acide arachidonique qui est un acide gras polyinsaturé à 20 atomes de carbone présent dans les phospholipides constituant les membranes cellulaires. Les prostaglandines sont des molécules de petite taille, lipophiles produites par une grande variété de types cellulaires agissant localement de façon paracrine ou autocrine. Elles modulent de nombreux systèmes comme le SNC, le système cardiovasculaire, le système endocrinien, le système gastro-intestinal, le système génito-urinaire ainsi que les systèmes respiratoire et immunitaire (Park et al., 2006). De nombreuses fonctions physiologiques sont attribuées aux prostaglandines et ces médiateurs inflammatoires peuvent jouer un rôle central dans certaines pathologies comme la maladie d'Alzheimer.

La synthèse de prostaglandines débute par la libération de l'acide arachidonique de la membrane plasmique par action de l'enzyme phospholipase A2. L'acide arachidonique est ensuite converti en PGG_2 puis en PGH_2 par action enzymatique de la cyclooxygénase (Smith et al., 2000 ; Figure 6). Le type de prostaglandines ou de thromboxanes synthétisé à partir de PGH_2 dépend du type cellulaire dans lequel a lieu la réaction. Les prostaglandines sont produites de façon ubiquitaire mais généralement un type cellulaire ne produit qu'un ou deux produits dominants. En condition physiologique, les prostaglandines agissent comme des médiateurs lipidiques autocrine et paracrine pour maintenir une homéostasie locale. Lors d'un épisode inflammatoire, la concentration de prostaglandines ainsi que le type de prostaglandines varient de manière significative. La production de prostaglandines est généralement très faible et augmente immédiatement en cas d'inflammation aigüe avant même le recrutement de leucocytes et l'infiltration des cellules immunitaires.

La cyclooxygénase est l'enzyme limitante dans la formation de prostaglandines. Elle possède trois isoformes appelées Cox-1, Cox-2 et Cox-3 (ou Cox-1b). Cox-1 est généralement exprimée constitutivement et présente dans de nombreux types cellulaires. Cox-1 est classiquement considérée comme l'isoforme principalement responsable de la synthèse homéostatique de prostaglandines.

Cox-2 a été caractérisée au début des années 90 (Simmons et al., 1989; Kujubu et al., 1991) et possède 60 % d'homologie de séquences d'acides aminés avec Cox-1 ainsi qu'une bonne conservation des domaines essentiels pour les fonctions enzymatiques. Cox-2 est

principalement inductible en réponse à des stimuli inflammatoires et n'est exprimée constitutivement que dans certains tissus périphériques comme la prostate, les reins ou l'estomac (Vane et al., 1998). Cox-2 est aussi présente constitutivement dans le cerveau, dans certains neurones du cortex et de l'hippocampe où son expression est régulée par les glucocorticoïdes et l'activité synaptique dépendante des récepteurs NMDA (Yamagata et al., 1993). Cette activité constitutive suggère que Cox-2 est impliquée dans les fonctions cellulaires. Cox-2 est aussi retrouvée dans d'autres types cellulaires comme la microglie, les astrocytes et les cellules vasculaires uniquement après un stimulus inflammatoire (Elmqvist et al., 1997; Bauer et al., 1997; Lacroix and Rivest, 1998).

Cox-3 a été découverte en 2002 chez le chien (Chandrasekharan et al., 2002). Cox-3 serait une cible du paracétamol puisque ce composé a un faible effet inhibiteur sur Cox-1 et Cox-2 mais a quand même une puissante activité antipyrétique et analgésique. Néanmoins ces résultats restent très controversés et le rôle fonctionnel de Cox-3 dans le cerveau humain reste pour l'instant incertain (Kis et al., 2005).

B. Synthèse de la prostaglandine de type E₂ (PGE₂)

PGH₂, formée à partir de l'acide arachidonique, ne joue pas un rôle important dans la réponse inflammatoire. Elle est le substrat pour des enzymes spécifiques qui vont produire des prostaglandines plus stables comme la PGE₂. Il existe quatre principaux types de prostaglandines produites *in vivo* : la prostaglandine de type E₂ (PGE₂), la prostacycline (PGI₂), la prostaglandine de type D₂ (PGD₂) et la prostaglandine de type F_{2α} (PGF_{2α} ; Figure 6). La synthèse de PGE₂ à partir de PGH₂ est réalisée par l'action enzymatique de prostaglandine synthases (PGES). Il existe trois types de PGES: les PGES microsomaux (mPGES) 1 et 2 et les PGES cytosoliques (cPGES).

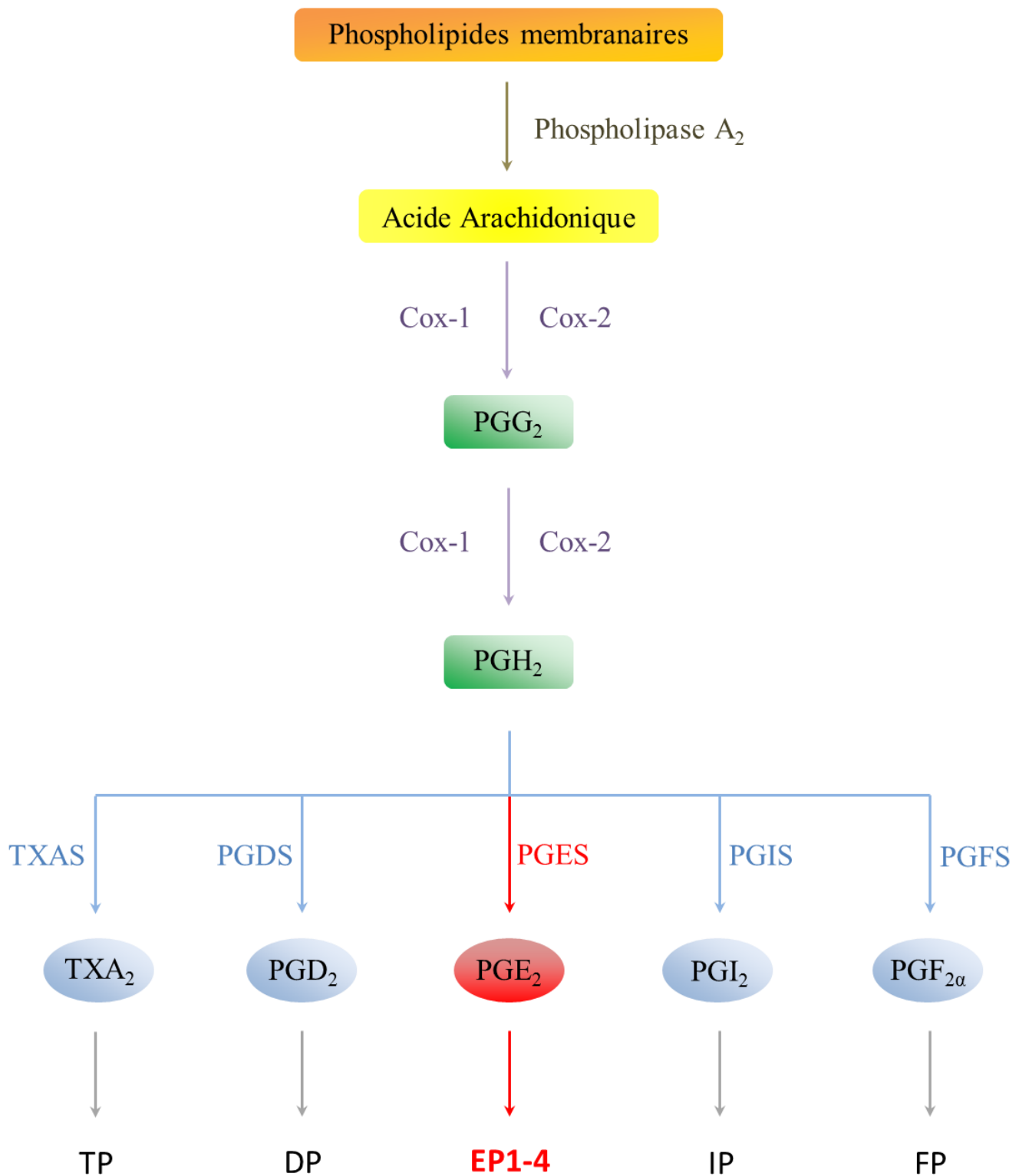


Figure 6. Biosynthèse des prostanoïdes et récepteurs associés

PG: Prostaglandines ; **TX:** Thromboxane ; **S:** Synthase

(Modifié d'après Hata and Breyer, 2004)

mPGES-1 est une enzyme à activité dépendante du glutathion associée à la membrane et fonctionnellement couplée à Cox-2 (Ogino et al., 1977; Jakobsson et al., 1999; Tanioka et al., 2000). L'expression de mPGES-1 est induite par des stimuli pro-inflammatoires comme IL-1 β . mPGES-1 est exprimée dans les neurones pyramidaux de l'hippocampe (Chaudhry et al., 2008) et est impliquée dans la synthèse de PGE₂ qui module la transmission synaptique (Sang et al., 2005). mPGES-1 est exprimée dans la microglie où elle participe à la production de PGE₂ induite par le lipopolysaccharide (LPS ; Ikeda-Matsuo et al., 2005) ainsi que dans les astrocytes où elle peut être induite par l'application d'A β (Satoh et al., 2000).

mPGES-2 est une enzyme à activité indépendante du glutathion associée à la membrane et fonctionnellement couplée à la fois à Cox-1 et à Cox-2 (Watanabe et al., 1997; Murakami et al., 2003). mPGES-2 est constitutivement exprimée dans les neurones corticaux et de l'hippocampe ainsi que dans la microglie (Ikeda-Matsuo et al., 2005; Chaudhry et al., 2010).

Enfin les PGES cytosoliques, sont des enzymes à activité indépendante du glutathion exprimées de façon ubiquitaire et constitutive et fonctionnellement couplées à Cox-1 (Tanioka et al., 2000). Les PGES cytosoliques sont exprimées par les neurones corticaux, hippocampaux et la microglie (Chaudhry and Dore, 2009).

C. Récepteurs aux PGE₂

Il existe quatre sous-types de récepteurs pour PGE₂ nommés EP1, EP2, EP3, et EP4 (Coleman et al., 1987; Funk et al., 1993; Honda et al., 1993; Regan et al., 1994; Breyer et al., 1996). Ces récepteurs sont des Récepteurs Couplés aux Protéines G (RCPG) à sept domaines transmembranaires. En fonction du type de protéine G associé, les récepteurs activent différentes voies de signalisation intracellulaire (Figure 7).

EP1 a été décrit originellement comme un constricteur du muscle lisse (Coleman and Kennedy, 1985). L'ADNc cloné de l'EP1 humain code pour un polypeptide de 402 acides aminés. L'ARNm de l'EP1 est exprimé principalement dans les reins, les muqueuses gastriques et les tissus surrénaux (Breyer and Bagdassarian, 2001). EP1 est couplé à la protéine Gq. L'activation d'EP1 va entraîner une réaction de catalyse du PIP2 en IP3 + DAG grâce à la phospholipase C. L'augmentation d'IP3 va entraîner une augmentation de la

concentration en calcium. L'ARNm de EP1 est présent dans les cellules parvo- et magnocellulaire du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, dans les cellules épendymaires qui bordent le troisième ventricule, dans l'aire préoptique et dans la moelle épinière (Oka et al., 2000; Nakayama et al., 2004).

EP2 a été caractérisé par sa capacité à causer la relaxation des muscles lisses (Gardiner, 1986). L'ADNc cloné d'EP2 humain code pour un polypeptide de 358 acides aminés. EP2 est fortement exprimé dans l'utérus, le foie et la rate et faiblement dans les reins (Breyer and Bagdassarian, 2001). EP2 est couplé à la protéine Gs. Son activation entraîne une stimulation de l'adenylyl cyclase qui catalyse la transformation de l'ATP en AMPc. L'AMPc se fixe sur les sous-unités régulatrices de la protéine kinase AMPc dépendante (PKA) provoquant la libération des sous-unités catalytiques et son activation. Dans le cerveau EP2 est exprimé dans le noyau de la strie terminale, le septum latéral, l'organe subfornical, le noyau ventromédian de l'hypothalamus, l'amygdale centrale, le locus coeruleus, l'area postrema, le cortex cérébral, le striatum (McCullough et al., 2004; Zhang and Rivest, 2008) et l'hippocampe où il est fortement exprimé dans les neurones pyramidaux et module la transmission synaptique (Sang et al., 2005).

EP3 a été originellement identifié comme un constricteur des muscles lisses (Coleman et al., 1994). EP3 est exprimé dans les reins, l'utérus, les glandes surrénales et la paroi stomacale (Breyer and Bagdassarian, 2001). Ce récepteur est unique dans la famille des récepteurs aux prostaglandines puisqu'il existe des nombreux variants d'épissage, chacun possédant une séquence unique au niveau de la séquence C terminale. Chaque isoforme nommés α , β , et γ de l'EP3 est couplée à une protéine G différente. Les isoformes EP3 α et EP3 β sont couplées à la protéine Gi (Sugimoto et al., 1993). L'activation de ces isoformes entraîne une inhibition de l'adenylyl cyclase provoquant *in fine* une diminution de l'activité de la PKA. EP3 γ est couplé soit à une protéine Gi/o soit à une protéine Gs (Irie et al., 1993, 1994; Breyer et al., 2001). La protéine Gi/o inhibe l'adenylyl cyclase, la protéine Gs a l'effet opposé. Dans le cerveau, EP3 est exprimé dans le noyau parabrachial du tronc cérébral, l'aire préoptique, les cellules épendymaires et les noyaux du raphé pallidus, pontis, magnus et obscurus (Nakamura and Kaneko, 2000; Engblom et al., 2001). EP3 est aussi exprimé dans le noyau du tractus solitaire sur les afférences vagales (Marty et al., 2008). A l'instar d'EP2, EP3 est exprimé dans l'hippocampe et particulièrement dans les neurones pyramidaux (Nakamura and Kaneko, 2000; Ek et al., 2000).

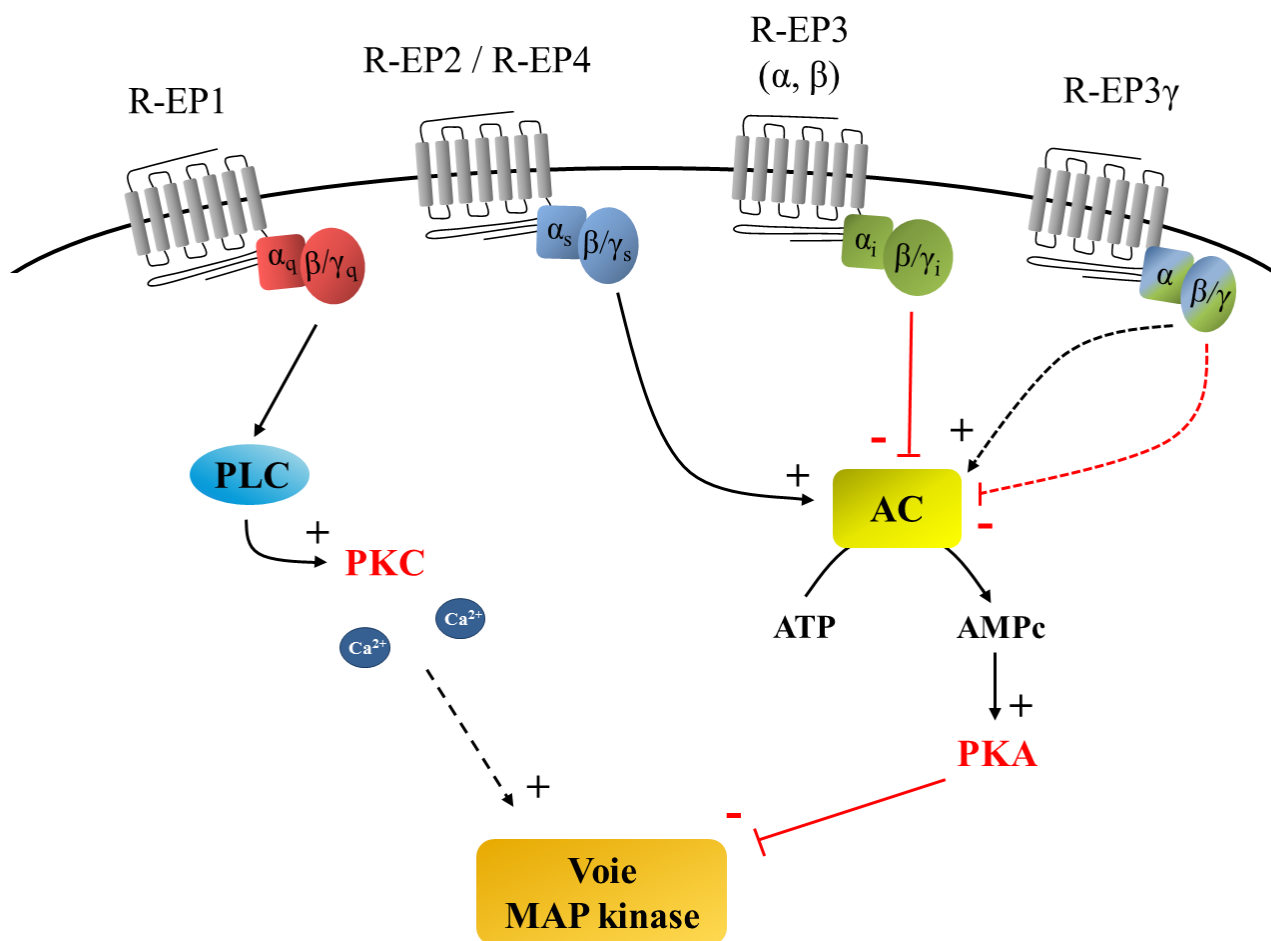


Figure 7. Voies de signalisation associées aux différents récepteurs à PGE₂

PLC : phospholipase C ; **PKC** protéine kinase C ; **Ca²⁺** : ions calcium ; **Gs** : protéine G stimulatrice ; **Gi** : protéine G inhibitrice ; **α,β,γ** : sous-unités des protéines G ; **AC** : Adenylate Cyclase ; **ATP** : adénosine triphosphate ; **AMPc** : adénosine monophosphate cyclique ; **EP1-4** : récepteurs aux prostaglandines E2 de type 1 à 4 (endogen prostanoid receptor 1-4) ; **PKA** : protéine kinase A.

(Modifié d'après Breyer et al., 2001; Bos et al., 2004))

EP4 est un récepteur très semblable à EP2. Il est aussi caractérisé par sa capacité à causer la relaxation des muscles lisses. L'ADNc cloné de l'EP2 humain code pour un polypeptide de 488 acides aminés. Ce récepteur est très fortement exprimé comparativement à EP2 et présente une distribution étendue à de nombreux types cellulaires (Breyer and Bagdassarian, 2001). Comme EP2, EP4 est couplé à la protéine Gs et son activation déclenche celle de la PKA.

Dans le cerveau, EP4 est exprimé dans l'aire préoptique, le noyau paraventriculaire magnocellulaire, le noyau supraoptique, le noyau parabrachial, le locus coeruleus, le noyau du tractus solitaire et la medulla ventrolatérale (Zhang and Rivest, 1999; Shibuya et al., 2002).

D. Fonctions des PGE₂

1. Au niveau périphérique

PGE₂ est principalement produite au niveau du cœur et des vaisseaux, des reins, du foie, de l'estomac et des os (Smith, 1989; Park et al., 2006). PGE₂ participe au maintien de la pression sanguine systémique. La dérégulation de sa synthèse pourrait être impliquée dans le développement de l'hypertension artérielle (Nasjletti, 1998; Kennedy et al., 1999). PGE₂ peut jouer un rôle vasopresseur ou vasodépresseur suivant les récepteurs impliqués (vasodépresseur : EP2 et EP4 ; vasopresseur : EP3 ; Audoly et al., 1999; Zhang et al., 2000).

A concentration pathologique, PGE₂ inhibe l'agrégation plaquettaire alors qu'à concentration physiologique, l'effet est potentiateur via le récepteur EP3 (Gray and Heptinstall, 1991; Ma et al., 2001).

Au niveau des reins, PGE₂ contribue au maintien de la perfusion rénale et de la filtration glomérulaire par son effet vasodilatateur (Villa et al., 1997). PGE₂ régule le système rénine/angiotensine en inhibant l'effet vasoconstricteur de l'angiotensine II (Oates et al., 1988).

Au niveau des os, PGE₂ (notamment via EP2 et EP4) stimule la production d'ostéoclastes (Tai et al., 1997; Li et al., 2000; Sakuma et al., 2000) et stimule la résorption osseuse via le récepteur EP4 (Miyaura et al., 2000).

Les prostaglandines, notamment PGE₂, jouent un rôle important dans la reproduction. Chez la femme, les altérations de la morphologie du follicule précédant l'ovulation sont régulées par les prostaglandines (Downs and Longo, 1983) et l'inhibition de la synthèse de PGE₂ entraîne des problèmes d'ovulation et de fertilité (Smith et al., 1996). PGE₂ facilite la contraction utérine lors de la parturition.

PGE₂ participe aussi à la carcinogénèse dans le colon via le récepteur EP1 (Watanabe et al., 1999). L'inhibition de Cox-2, et donc de la production de PGE₂, bloque la prolifération de lignée cellulaire cancéreuse (Sumitani et al., 2001).

2. Au niveau du système nerveux central

L'expression cérébrale de PGE₂ a été décrite pour la première fois par Samuelson (1964). PGE₂ est exprimée dans de nombreuses régions du cerveau comme l'hypothalamus, l'hippocampe, le tronc cérébral ou encore la moelle épinière (Coceani and Wolfe, 1965; Gerozissis et al., 1983; Montine et al., 1999). En conditions physiologiques, les concentrations de PGE₂ sont assez faibles dans le cerveau de rongeur (Berchtold-Kanz et al., 1981) mais certains stimuli comme les convulsions cloniques induites par un choc électroconvulsif ou par administration de convulsivants (Berchtold-Kanz et al., 1981; Seregi et al., 1981) entraînent une rapide augmentation de cette concentration. Une augmentation de la concentration de PGE₂ est également observée dans la maladie d'Alzheimer (Montine et al., 1999).

PGE₂ est à la base neurologique de la réponse fébrile dans le SNC (Stitt, 1986; Saper and Breder, 1994) et l'inhibition centrale de Cox-2 bloque l'effet pyrogène induit par l'injection périphérique d'IL-1 β ou d'IL-6 (LeMay et al., 1990; Li et al., 2001). PGE₂ module l'activité synaptique dans certaines structures du système nerveux central comme le cortex, l'hypothalamus, l'hippocampe ou encore la moelle épinière.

a) Tronc cérébral

Dans le noyau du tractus solitaire (NTS), PGE₂ facilite la libération évoquée et spontanée des vésicules de glutamate (Sekiyama et al., 1995). PGE₂ facilite la transmission glutamatergique entre les neurones locaux du NTS via des récepteurs présynaptiques et déprime les réponses évoquées provenant des afférences vagales en agissant sur des récepteurs EP3 présynaptiques (Laaris and Weinreich, 2007; Marty et al., 2008). Dans le

mésencéphale, PGE₂ déprime l'activité neuronale de la substance grise périaqueducule en inhibant sélectivement via des récepteurs EP3 présynaptiques des afférences glutamatergiques (Lu et al., 2007).

b) Hypothalamus

L'administration centrale de PGE₂ active de nombreuses structures du cerveau antérieur, notamment certains noyaux hypothalamiques (Lacroix et al., 1996). Dans le noyau supraoptique, PGE₂ augmente l'excitabilité des neurones par deux actions différentes (Shibuya et al., 2002): un blocage de la libération de GABA par l'activation de récepteurs présynaptiques EP3 sur les afférences GABAergiques (Ibrahim et al., 1999) et une augmentation de la fréquence de décharge des potentiels d'action dans les neurones supraoptiques via une activation du récepteur EP4 (Sutarmo Setiadji et al., 1998). Dans l'aire préoptique, PGE₂ augmente la fréquence de décharge des potentiels d'action des neurones non thermosensibles et à l'inverse diminue la fréquence de décharge des potentiels d'action des neurones thermosensibles (Ranels and Griffin, 2003).

c) Moelle épinière

Dans la moelle épinière, PGE₂ est produite localement après lésion de tissus périphériques (Dirig and Yaksh, 1999). PGE₂ potentialise la perception de la douleur par le système nerveux central en facilitant la transmission de l'information douloureuse et en augmentant la perception de la douleur (hyperalgie et allodynie) par des mécanismes encore mal connus. Dans les couches superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière, PGE₂ via des récepteurs EP2 postsynaptiques réduit la transmission glycinergique en inhibant l'activité des récepteurs glycine strychnine-sensibles (Ahmadi et al., 2002). Dans les ganglions des racines dorsales, PGE₂ active des récepteurs EP1 localisés dans les racines dorsales et entraîne une augmentation de la libération de neuropeptides (substance P et CGRP *i.e* calcitonin gene-related peptide) dans la corne dorsale. Cette augmentation de la transmission synaptique est à l'origine de l'hyperalgie (Nakayama et al., 2004).

c) Hippocampe

Cox-2 est exprimé dans l'hippocampe et peut être régulé par l'activité synaptique dépendante des récepteurs NMDA (Yamagata et al., 1993). PGE₂ régule l'excitabilité membranaire des cellules granulaires et des cellules pyramidales de CA1 (Chen et al., 2002; Chen and Bazan, 2005). PGE₂ est nécessaire pour la potentialisation à long terme (PLT) à la

synapse voie perforante-cellule granulaire et inhibe cette PLT à la synapse CA3-CA1 par des mécanismes dépendant de la PKA et de la PKC (Chen et al., 2002; Chen and Bazan, 2005; Yang et al., 2009). A la synapse CA3-CA1, PGE₂ synthétisée au niveau postsynaptique potentialise la transmission synaptique par action sur les récepteurs EP2 exprimés au niveau présynaptique (Sang et al., 2005).

E. Implication de PGE₂ dans la pathogenèse de la MA

1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et MA

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des molécules qui inhibent l'activité des Cox à l'origine de la synthèse de prostaglandines. Ces anti-inflammatoires sont administrés dans nombre de pathologies allant de la céphalée ou d'un épisode fébrile à de sérieux troubles auto-immuns comme l'arthrose rhumatoïde. La composante neuroinflammatoire de la maladie d'Alzheimer s'accompagne de la production de nombreuses molécules inflammatoires au rang desquelles, PGE₂ joue un rôle clé. La découverte du rôle clé de PGE₂ provient d'une première étude épidémiologique établissant que la prévalence de la MA était plus faible chez des patients traités par AINS de façon chronique pour une arthrose rhumatoïde (McGeer et al., 1990; Beard et al., 1991). D'autres études épidémiologiques (Stewart et al., 1997; in t' Veld et al., 2001; Lindsay et al., 2002; McGeer and McGeer, 2007) ont par la suite confirmé ces données et ont montré une réduction de la prévalence de 40 à 70 % de la MA chez des patients traités chroniquement par des AINS pour des pathologies inflammatoires. Ces données ont conduit à des études cliniques recherchant l'efficacité d'un traitement par un AINS, l'indométhacine, chez des patients diagnostiqués comme étant atteints de la MA (Rogers et al., 1993). D'après cette étude, la prise journalière (100 à 150 mg) d'indométhacine entraîne une diminution des déficits cognitifs après 6 mois de traitement. Cependant les effets secondaires liés à la prise d'AINS étant mal tolérés par les patients, cet essai clinique a été arrêté. Chez les modèles murins de la MA, les AINS réduisent les dépôts amyloïdes, diminuent certains marqueurs de l'inflammation comme l'activation microgliale et améliorent les performances cognitives (Lim et al., 2000; Yan et al., 2003; Morihara et al., 2005). Grâce à ces résultats combinés aux résultats épidémiologiques supportant l'hypothèse d'un rôle protecteur des AINS dans le développement de la MA, l'étude ADAPT (Martin, 2008) a été menée pour tester l'efficacité préventive des inhibiteurs

sélectifs et non-sélectifs des Cox. Mais cette étude a été arrêtée prématurément en raison d'effets indésirables importants cardiovasculaires. D'autres études cliniques ont été initiées pour tester les effets des AINS dans la MA ayant pour résultats d'ensemble une absence de réduction des déficits cognitifs (pour revue McGeer and McGeer 2007).

Afin de minimiser les effets indésirables sur la muqueuse gastro-intestinale, des inhibiteurs spécifiques de Cox-2 ont été sélectionnés. Le Nimesulide (Aisen et al., 2003), le rofecoxib (Aisen et al., 2003; Thal et al., 2005) et le celecoxib (Soininen et al., 2007; Lyketsos et al., 2007) n'ont pas montré d'effets bénéfiques chez les patients diagnostiqués comme atteints de la MA. Ces études se sont donc révélées décevantes et suggèrent que les AINS ne sont pas de bons outils thérapeutiques pour des stades établis de la MA.

En revanche d'autres études épidémiologiques comme l'étude de Rotterdam (in t' Veld et al., 2001) et l'étude de Baltimore sur le vieillissement (Stewart et al., 1997) présentent un autre point de vue sur la prise d'AINS. En effet, dans ces études la prise sur une longue période d'ibuprofène et de diclofénac (inhibiteurs non-sélectifs des Cox) montrent un effet protecteur contre la MA. De plus, l'effet protecteur de ces AINS est proportionnel à la durée de la prise, avec une protection maximale mesurée après une prise de plus de 2 ans. Des effets protecteurs ont aussi été observés rétrospectivement dans des études comparant la prévalence de la MA parmi les membres d'une même famille ou des cohortes "non-familiales". Ainsi la prise chronique d'AINS ou de glucocorticoïdes est associée à une diminution de la prévalence de la MA ou à une augmentation de l'âge d'apparition des premiers symptômes chez des jumeaux ou au sein d'une même fratrie (Breitner et al., 1994, 1995). L'effet protecteur des AINS vis à vis de la prévalence est aussi retrouvé pour les cohortes "non-familiales" (Beard et al., 1998; Wolfson et al., 2002; Lindsay et al., 2002; Vlad et al., 2008).

Ces résultats montrent que les effets thérapeutiques des AINS varient en fonction du stade de la maladie. L'inhibition de la réaction neuroinflammatoire dans les stades pré-cliniques de la pathologie semble diminuer ou retarder le développement de la MA. A l'inverse diminuer l'inflammation dans les stades plus tardifs n'a pas d'effets bénéfiques voire se traduit par une aggravation des symptômes (Breitner et al., 2011; Leoutsakos and Muthen, 2012). L'apparente contradiction avec les effets bénéfiques des AINS observés chez les modèles murins de la MA pourrait être expliquée par le fait que ces modèles reflètent les phases précoces de la maladie et ne reproduisent ni l'intégralité de l'étiologie de la maladie chez l'homme, ni son évolution. En ce sens, les effets bénéfiques chez les modèles murins

seraient en accord avec les études épidémiologiques sur la prise d'AINS dans les stades pré-cliniques.

Un point négatif à prendre en considération dans cette stratégie thérapeutique est la présence d'effets secondaires indésirables inhérents à la prise d'AINS de manière chronique chez les personnes âgées. Les AINS inhibent l'enzyme Cox et donc bloquent la synthèse des prostaglandines qui participent à de nombreuses fonctions physiologiques. Une nouvelle piste de recherche consiste donc à cibler directement les récepteurs des PGE₂.

2. Rôles des récepteurs aux PGE₂ dans la MA

Les AINS inhibent l'activité des Cox à l'origine de la synthèse de prostaglandines et de PGE₂. Une prise prolongée d'AINS dans une phase asymptomatique réduit la prévalence de la MA. Une première étude à la fin des années 90 a montré que la concentration circulante de PGE₂ était supérieure d'un facteur 10 chez des patients diagnostiqués atteints de la MA (Montine et al., 1999) suggérant ainsi un rôle clé pour cette prostaglandine. En cohérence avec cette hypothèse, la concentration de PGE₂ augmente en fonction de l'évolution de la MA ; elle est élevée chez les patients atteints de troubles modérés de la cognition (mild cognitive impairment, MCI) et croît encore chez les patients aux stades plus tardifs (Combrinck et al., 2006). De plus la survie des patients montre une corrélation positive avec un taux élevé de PGE₂ pour des stades précoces de la maladie (Combrinck et al., 2006).

In vitro PGE₂ peut avoir des effets opposés: il potentialise la production du peptide Aβ (Liang et al., 2005; Hoshino et al., 2007) et induit l'apoptose des neurones de l'hippocampe (Takadera et al., 2004) ou il réduit la toxicité d'Aβ sur des neurones corticaux (Echeverria et al., 2005). Ces résultats en apparence contradictoires pourraient provenir de la multiplicité des récepteurs et/ou de la localisation tissulaire du récepteur impliqué.

a) Récepteurs EP2/EP4

(1) Effets neurotoxiques

La production d'Aβ joue un rôle important dans la pathogénèse de la MA. *In vitro*, PGE₂ augmente l'expression de la protéine APP par activation des récepteurs EP2 et EP4 ce qui induit une production accrue d'Aβ (Pooler et al., 2004; Hoshino et al., 2007). *In vivo*, la souris transgénique exprimant la protéine APP mutée (APP^{sw}) et n'exprimant plus EP2

(APP^{swe}/EP2^{-/-}) ou EP4 (APP^{swe}/EP4^{-/-}) présente des concentrations d'Aβ inférieures à la souris APP^{swe} (Hoshino et al., 2007). Ces résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* démontrent que les récepteurs EP2 et EP4 sont impliqués dans la production d'Aβ et participent donc de la pathogénèse de la MA.

Les dommages oxydatifs cérébraux et l'élévation de la concentration de PGE₂ sont deux phénomènes caractéristiques de nombreuses maladies neurodégénératives dont la MA. L'activation du système immunitaire par l'injection intra-cérébro-ventriculaire (i.c.v) de lipopolysaccharide (LPS), un fragment de la paroi des bactéries Gram-, entraîne une augmentation de certains biomarqueurs de peroxydation lipidiques comme les F2-isoprostanes et les F4-neuroprostanes (Montine et al. 2002). Cette augmentation est bloquée par un prétraitement aux AINS mais aussi par la délétion du récepteur EP2 montrant ainsi l'implication de la voie de signalisation de PGE₂ via EP2 dans les dommages oxydatifs cérébraux liés au LPS (Montine et al. 2002). La délétion du récepteur EP2 chez la souris double transgénique APP^{swe}/PS1ΔE9 induit une réduction de la peroxydation lipidique, une diminution de l'activité de la β-sécrétase et de la concentration d'Aβ (Liang et al., 2005).

De nombreux travaux rapportent une dualité fonctionnelle des cellules microgliales dans la MA: neuroprotecteur par la phagocytose d'Aβ et neurotoxique par la synthèse de molécules inflammatoires (Block et al., 2007; Lee and Landreth, 2010). *In vitro*, la phagocytose d'Aβ synthétique par des cellules microgliales issues de souris EP2^{-/-} est augmentée. *Ex vivo* la clairance d'Aβ sur des coupes post-mortem d'hippocampes de cerveaux de patients atteints de la MA est augmentée par incubation de ces coupes avec des cellules microgliales EP2^{-/-} (Shie et al., 2005). Ainsi, la délétion du récepteur EP2 favoriserait le rôle neuroprotecteur de la microglie, au détriment de son rôle neurotoxique, en augmentant la libération de chémokines. Cette hypothèse est confortée par la nécessité du récepteur EP2 microglial pour induire une neurotoxicité paracrine (Shie et al., 2005).

(2) Effets neuroprotecteurs

PGE₂ via EP2 et EP4 peut aussi avoir un rôle neuroprotecteur. Une étude a montré que l'activation spécifique des récepteurs EP2 et EP4 diminuait le stress oxydatif et la mort cellulaire induits par l'Aβ par une augmentation de la concentration d'AMPc (Echeverria et al., 2005). D'autre part, certaines études suggèrent que les effets neuroprotecteurs des AINS pourraient être indépendants de l'inhibition des Cox (Lehmann et al., 1997; Tegeder et al.,

2001; Weggen et al., 2001) et qu'une concentration élevée de PGE₂ dans les stades précoces de la maladie serait corrélée positivement à l'espérance de vie des patients (Combrinck et al., 2006). Ces observations suggèrent un rôle neuroprotecteur de PGE₂ dans les phases précoces de la MA. Le rôle neuroprotecteur de PGE₂ pourrait être dû à une diminution de l'apoptose induite par le TNF α , un des principaux médiateurs inflammatoires neurotoxiques dans la MA, via les récepteurs EP1, EP2 et EP4 (Lee et al., 2004).

L'activation des récepteurs EP2 et EP4 par des concentrations faibles de PGE₂ pourrait avoir également un rôle neuroprotecteur via l'augmentation intracellulaire d'AMPc en diminuant la production de radicaux libres induite par A β ₄₂ (Echeverria et al., 2005). *In vitro* A β ₄₂ induit l'expression de facteurs inflammatoires (TNF α , CCL3, iNOS,...) par la microglie, expression qui est réduite par l'activation du récepteur EP4 qui augmente en outre sa clairance (Woodling et al., 2014). *In vivo*, la délétion du gène codant pour EP4 chez la souris APPswe/PS1 Δ E9, provoque une augmentation de l'expression de gènes pro-inflammatoires et du dépôt d'A β , mais seulement pour des stades précoces de la maladie (Woodling et al., 2014). L'expression d'EP4 diminue avec la progression de la maladie, suggérant que la perte précoce d'EP4 et de son activité anti-inflammatoire pourrait contribuer à l'avancée de la maladie (Woodling et al., 2014).

b) Récepteurs EP1/EP3

EP1 est connu pour son rôle neurotoxique. *In vivo*, le prétraitement avec un agoniste de EP1 (ONO-DI-004) augmente le volume des lésions lié à l'injection de NMDA dans le striatum (Ahmad et al., 2006). De plus les injections de NMDA chez des souris EP1^{-/-} provoquent moins de lésions que chez des souris sauvages (Ahmad et al., 2006). Dans le cadre de la MA, EP1 est impliqué dans les mécanismes de mort cellulaire. Chez la souris APPswe/PS1 Δ E9, la délétion de EP1 diminue le nombre de plaques amyloïdes, réduit la mort des neurones hippocampaux et atténue les troubles cognitifs (Zhen et al. 2012).

EP3 est généralement considéré comme neuroprotecteur en régulant le taux de phosphorylation de la protéine AKT qui contrôle l'apoptose (Bilak et al., 2004). La neurotoxicité NMDA-dépendante des neurones pyramidaux de l'hippocampe est diminuée par un agoniste EP3, le sulprostone (Wu et al., 2007).

De même que pour EP2 et EP4, EP3 peut aussi avoir des effets délétères. *In vitro*, la stimulation de EP3 est liée à une augmentation de la synthèse de Cox-2 et de PGE₂ en retour

(Shi et al., 2012). Chez la souris APP^{swe}/PS1 Δ E9, la délétion d'EP3 produit une diminution de la concentration d'A β dans le cerveau et une récupération des déficits en protéines présynaptiques (Shi et al., 2012).

La stimulation d'EP3 est également liée à la synthèse de molécules inflammatoires de (NOX, iNOS et TNF α) qui provoque une augmentation de la peroxydation lipidique, la production d'A β et des déficits synaptiques. La voie de signalisation de EP3 serait pro-amyloïdogénique, pro-inflammatoire et synaptotoxique, la situant ainsi comme une voie clé dans le développement de la MA (Shi et al., 2012).

IV. La synapse fibre moussue-cellule pyramidale de CA3 (FM-CA3)

A. Hippocampe et Circuit trisynaptique

L'hippocampe est une structure du télencéphale et appartient fonctionnellement au système limbique. Il se divise en trois régions, le *subiculum*, le *gyrus* dentelé et la Corne d'Ammon (CA1, CA2, CA3). Sur le plan de l'évolution, l'hippocampe appartient à l'archéocortex et possède trois couches laminaires par opposition au néocortex qui se découpe en six couches laminaires. Les somas des cellules principales forment une couche cellulaire entourée de deux autres couches comprenant les dendrites, les axones et les interneurones.

Les neurones de ces différentes régions sont connectés par des synapses glutamatergiques formant un circuit trisynaptique. Les neurones des couches II et III du cortex entorhinal (voie perforante) forment des synapses avec les cellules granulaires du *gyrus* dentelé. Ces dernières envoient ensuite leurs axones (fibres moussues : FM) vers la zone CA3 de la Corne d'Ammon, et forment des synapses avec les cellules pyramidales de cette zone (synapse FM-CA3). Les cellules pyramidales de la zone CA3 projettent à leur tour, via les collatérales de Schaffer, sur les cellules pyramidales de la zone CA1 de la Corne d'Ammon (synapses CA3/CA1). Les cellules pyramidales de la zone CA1 projettent enfin via le *subiculum* dans les couches profondes (couche V) du cortex entorhinal. L'ensemble des synapses de ce circuit sont des synapses glutamatergiques possédant les trois principaux

récepteurs ionotropiques du glutamate de type AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionate), NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et kaïnate. Les cellules pyramidales CA3 reçoivent trois types d'afférences glutamatergiques : des fibres moussues du gyrus dentelé au niveau des dendrites proximaux, des fibres associatives/commissurales (A/C) qui proviennent des cellules CA3 ipsilatérales (associatives) ou contralatérales (commissurales) et des fibres provenant du cortex entorhinal au niveau des dendrites distaux (Figure 8).

L'axone principal de la cellule en grain du gyrus dentelé, la fibre moussue, quitte la couche granulaire et projette au niveau de CA3 dans une couche suprapyramidale étroite (100µm) appelée *stratum lucidum* (Claiborne et al., 1986). Dans le *stratum lucidum*, les fibres moussues contactent les dendrites proximales des cellules pyramidales CA3. Les cellules pyramidales de CA3 reçoivent aussi des afférences sur leurs dendrites distaux dans le *stratum oriens* par les fibres moussues infra-pyramidales (Blackstad et al., 1970; Gonzales et al., 2001). Les fibres moussues émettent également des collatérales qui contactent les interneurons et les cellules moussues dans le *hilus* du gyrus dentelé (Frotscher et al., 1994). Les fibres moussues contactent des interneurons dans la zone CA3 par l'intermédiaire de filopodes qui proviennent des boutons présynaptiques (Amaral and Dent, 1981).

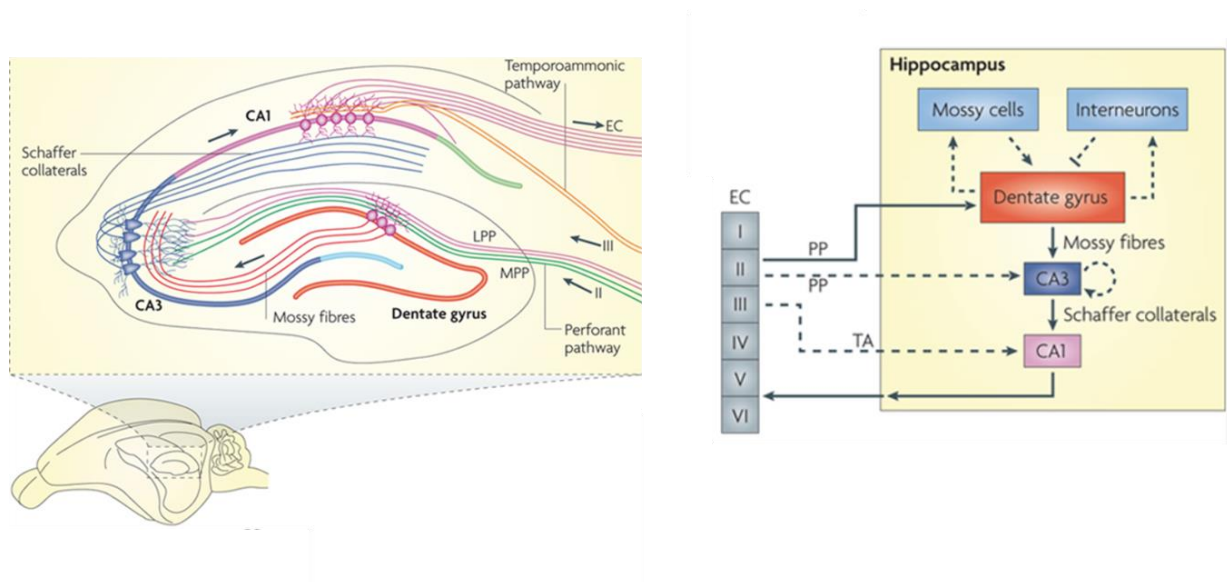


Figure 8. Circuit hippocampique

Illustration du circuit hippocampique et du réseau formé par l'hippocampe et les afférences provenant du cortex entorhinal (EC) : La voie perforante latérale (i.e lateral perforant path ; LPP) et médiane i.e medial perforant path ; MPP) (Modifié d'après Deng et al., 2010)

Chaque fibre moussue contacte en moyenne 14 cellules pyramidales de CA3 alors qu'une cellule CA3 est contactée par environ 50 cellules granulaires via les fibres moussues (Amaral et al., 1990; Henze et al., 2000). Les cellules pyramidales CA3 reçoivent des afférences associatives et commissurales sur la partie distale de leurs dendrites (Gottlieb and Cowan, 1973).

B. Mécanismes de ségrégation des fibres moussues

La projection des fibres moussues est restreinte dans le *stratum lucidum* et cette restriction est gouvernée par des mécanismes moléculaires bien identifiés notamment le système plexines/sémaphorine (Suto et al., 2007). Les fibres moussues expriment la plexin-A4 et ne migrent pas dans les couches où la cellule CA3 exprime la sémaphorine 6A. L'effet répulsif de la sémaphorine 6A est atténué par l'expression de la plexin-A2 par les cellules pyramidales dans le *stratum lucidum*. Les fibres moussues ne migrent ainsi que dans le *stratum lucidum*. La sémaphorine 6B, aussi exprimée par les cellules pyramidales CA3, possède un rôle répulsif et permet la migration des fibres moussues uniquement dans le *stratum lucidum* (Tawarayama et al., 2010 ; Figure 9A). D'autres molécules interviennent dans la migration des fibres infra-pyramidales, notamment les nectines-1 et -3 (Honda et al., 2006), les Cadhérine-8 et N-Cadhérine (Bekirov et al., 2008), les NCAM (Cremer et al., 1997), et la voie de signalisation du BDNF (Tamura et al., 2006).

C. Morphologie des synapses FM-CA3

Les fibres moussues forment trois types de contacts synaptiques dans le *hilus* du *gyrus* dentelé et dans l'aire CA3. Les fibres moussues peuvent contacter les cellules pyramidales CA3 en formant de larges boutons présynaptiques (environ 8 µm chez le rat adulte) dans le *stratum lucidum* et peuvent aussi contacter les cellules moussues dans le *hilus* du *gyrus* dentelé (Blackstad and Kjaerheim, 1961; Rollenhagen et al., 2007 ; Figure 9B). Chaque bouton contient en moyenne 20400 petites vésicules claires (vésicules synaptiques ; environ 40 nm de diamètre) contenant le glutamate. Parmi ces 20400 vésicules, environ 900 sont proches de la zone active, dans les 60 premiers nanomètres, environ 4400 vésicules sont

localisés entre 60 et 200 nm et forment un "pool" de recyclage (Rollenhagen et al., 2007). Le reste des vésicules est localisé au-delà de 200 nm et forme le "pool" de réserve. Les vésicules retrouvées dans les autres synapses corticales sont moins nombreuses (quelques dizaines à quelques centaines) et présentent une taille n'excédant pas 60 nm (Harris and Sultan, 1995). Le bouton présynaptique contient aussi des vésicules à cœur denses d'une taille supérieure à 70 nm pouvant contenir le BDNF (*i.e* Brain-Derived Neurotrophic Factor). En plus des vésicules, chaque bouton de fibre moussue contient du réticulum endoplasmique lisse et des mitochondries (Amaral and Dent, 1981; Bradwejn and de Montigny, 1984; Claiborne et al., 1986; Frotscher et al., 1991). Chaque bouton englobe une épine dendritique postsynaptique de la cellule pyramidale CA3, aussi appelée excroissance épineuse. Le bouton présynaptique et l'excroissance épineuse sont ancrés l'un à l'autre grâce aux jonctions adhérentes (*puncta adherentia*). Ces jonctions sont composées de molécules d'adhésion comme la nectine-1, la nectine-3 (Mizoguchi et al., 2002), l'afadine (Majima et al., 2009), la N-cadhérine, la S-SCAM et l'alpha-caténine (Yamada et al., 2003).

Chaque bouton de fibre moussue forme, avec l'excroissance dendritique épineuse CA3, une synapse géante ayant la particularité morphologique de posséder de multiples zones actives (entre 7 et 45 ; 25 en moyenne) toutes faisant face aux densités postsynaptiques associées. La taille d'une zone active est en moyenne de 0.1 μm^2 (0.007 - 0.17 μm^2) et est distante d'environ 45 μm d'une autre (Rollenhagen et al., 2007 ; Figure 9B). Ces boutons donnent souvent naissance à des filopodes (jusqu'à 9) qui chez l'adulte peuvent atteindre une longueur maximale de 30 μm (Henze et al., 2000). Les deux autres types de contacts synaptiques sont associés aux interneurons dans le *hilus* et dans la zone CA3. Les boutons contactant les interneurons sont plus petits que les boutons géants et possèdent un seul site de libération. Les boutons peuvent former des synapses "en passant" mais peuvent aussi contacter les interneurons par l'intermédiaire de la terminaison des filopodes provenant des boutons géants (40 à 50 synapses par fibre moussue).

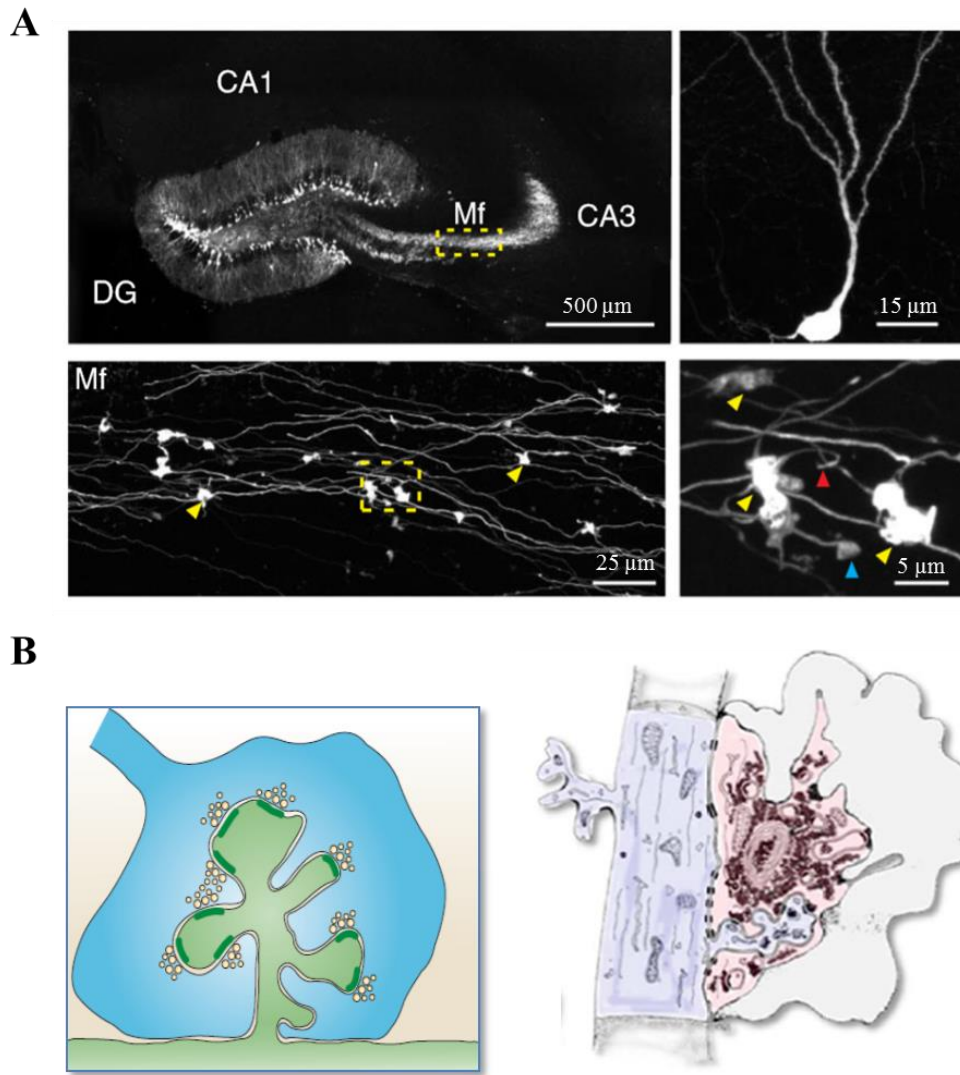


Figure 9. Morphologie de la synapse fibre moussue-cellule pyramidale CA3 (FM-CA3)

A. Marquage des cellules granulaires par infection virale (virus de la rage exprimant la protéine fluorescente mCherry). Ce marquage permet de visualiser l'ensemble des projections des différents prolongements des cellules granulaires (haut gauche), les corps cellulaires et l'arbre dendritique (haut droite) ainsi que les fibres moussues et leurs boutons présynaptiques géants (flèches jaunes en bas à droite). Les flèches bleues représentent les satellites des boutons et les flèches rouges représentent les filopodes. Modifié d'après Haberl et al. 2014 **B.** Représentations schématiques de la synapse FM-CA3. A gauche, en vert est représenté l'élément postsynaptique avec de nombreuses densités postsynaptiques et en bleu l'élément présynaptique avec les zones actives faisant face à chaque densité postsynaptique. Modifié d'après Nicoll and Schmitz, 2005). A droite l'élément postsynaptique est coloré en bleu et le bouton présynaptique en rouge. Modifié d'après Amaral and Dent 1981)

D. Transmission et plasticité synaptique

1. Généralités : la synapse excitatrice glutamatergique

Les synapses sont des connexions spécialisées entre les neurones leur permettant de communiquer afin de transmettre l'information. Il existe deux types de synapses : électrique et chimique. La communication entre deux neurones se fait principalement par des synapses chimiques excitatrices ou inhibitrices. Une synapse chimique est constituée d'un bouton terminal présynaptique, d'une fente synaptique et d'un élément postsynaptique. De façon simplifiée, l'arrivée d'un potentiel d'action (PA) au niveau du bouton terminal du neurone présynaptique provoque une dépolarisation membranaire conduisant à une ouverture des canaux calciques dépendants du potentiel. L'influx calcique dans le bouton entraîne la fusion des vésicules synaptiques à la membrane présynaptique au niveau de la zone active. Ces vésicules synaptiques ont un diamètre de plusieurs dizaines de nanomètres et contiennent les neurotransmetteurs (le glutamate pour une synapse glutamatergique). Après la fusion de ces vésicules, le glutamate est libéré dans la fente synaptique, dont la largeur est d'environ 30 nm, qui sépare l'élément présynaptique de l'élément postsynaptique. Après diffusion dans la fente synaptique, le glutamate se fixe sur des récepteurs spécifiques à la membrane postsynaptique. Lorsque le glutamate se lie sur les récepteurs ionotropiques au niveau postsynaptique, l'influx de cations résultant entraîne la formation d'un potentiel postsynaptique excitateur (PPSE).

2. Mécanismes moléculaires de la transmission synaptique

La fusion des vésicules de glutamate s'effectue au niveau des zones actives de la membrane présynaptique. Plusieurs protéines formant cette zone active ont été identifiées : Munc13s, RIMs (Rab-3 interacting molecules), Picollo, Bassoon, α -liprines,... (Sudhof, 2004). Dans les zones actives de la synapse FM-CA3, 8 à 10 vésicules de glutamate sont ancrées à la zone active (Suyama et al., 2007). Ces vésicules font partie du "pool de vésicules prêtes à être libérées" (i.e Readily Releasable Pool : RRP ; Schneggenburger et al., 1999). Ce "pool" de vésicules est relativement petit comparé au nombre total de vésicules synaptiques (environ 5%).

Pour initier la fusion de ces vésicules à la membrane, un PA doit entraîner l'ouverture de canaux calciques dépendants du potentiel (CCVD). A la synapse FM-CA3, il existe différents types de CCVD (type N, P/Q, R). Un bouton de fibre moussue contient environ

2000 CCVD avec 66 % de canaux de type P/Q, 26 % de type N, et 8% de type R (Li et al., 2007). Les canaux de type P/Q et N semblent être les canaux majoritairement impliqués dans la transmission synaptique basale (Castillo et al., 1994), alors que les canaux de type R sembleraient intervenir lors de phénomènes de plasticités à long terme (Breustedt et al., 2003). L'augmentation consécutive de la concentration de calcium dans le bouton présynaptique favorise l'exocytose des vésicules de glutamate.

Les protéines SNARE (soluble N-ethyl-sensitive-factor attachment receptor-complex) sont impliquées dans la fusion de la membrane des vésicules synaptiques avec la membrane de la zone active (Jahn et al., 2003). Les protéines SNARE forment des complexes par l'interaction entre des protéines associées à la membrane vésiculaire (v-SNARE : synaptobrevine) et d'autres protéines associées à la membrane présynaptique de la zone active (t-SNARE : syntaxine et SNAP25). A ces complexes s'associent d'autres protéines telles que complexines et synaptotagmines. La synaptotagmine est un senseur calcique associé à la membrane des vésicules d'exocytose. L'influx de calcium par les CCVD et la fixation d'ions Ca^{2+} aux synaptotagmines entraînent un changement de conformation de ces dernières provoquant la fusion de la vésicule avec la membrane présynaptique et la libération du contenu vésiculaire dans la fente synaptique. Le glutamate libéré diffuse et active les récepteurs postsynaptiques et présynaptiques.

3. La transmission glutamatergique : récepteurs du glutamate

La synapse FM-CA3 est une synapse excitatrice glutamatergique. Les fibres moussues ainsi que les neurones pyramidaux CA3 expriment les différents types de récepteurs glutamatergiques. Il existe deux types de récepteurs : les récepteurs ionotropiques qui sont des récepteurs canaux perméables aux cations, s'ouvrant après liaison du glutamate et les récepteurs métabotropiques qui sont des récepteurs couplés aux protéines G pouvant agir sur les canaux ioniques ou les réactions métaboliques intracellulaires.

a) Les récepteurs ionotropiques du glutamate

Les récepteurs de type AMPA sont responsables de la transmission synaptique rapide dans le SNC. La plupart des récepteurs AMPA sont des hétérotétramères formés de dimères de dimères. La famille des récepteurs AMPA est composée de quatre sous-unités : GluA1, GluA2, GluA3 et GluA4. Les canaux des récepteurs AMPA sont perméables aux cations monovalents et leur perméabilité au calcium est dépendante des types de sous-unités formant

le récepteur. La perméabilité au calcium des récepteurs de type AMPA est déterminée par la présence de la sous-unité GluA2 (Jonas and Burnashev, 1995). Les récepteurs de type AMPA ne possédant pas GluA2 sont perméables au calcium et présentent une forte rectification entrante. La rectification des récepteurs de type AMPA est dépendante du potentiel et elle est due au blocage intracellulaire du récepteur par les polyamines (Bowie and Mayer, 1995). Le nombre de récepteurs de type AMPA présents au niveau de la densité post synaptique détermine en partie le poids de la transmission synaptique (Shi et al., 1999).

Les récepteurs de type kaïnate jouent de multiples rôles dans la transmission synaptique ainsi que dans certaines formes de plasticités synaptiques et notamment l'intégration des réponses synaptiques, la régulation de la libération de neurotransmetteurs, le contrôle de l'excitabilité neuronale. Les récepteurs de type kaïnate ont une structure similaire à celle des autres récepteurs ionotropiques du glutamate (Bennett and Dingledine, 1995) et possèdent une affinité pour le glutamate semblable aux récepteurs de type AMPA ($EC_{50} \sim 300 \mu M$). Les récepteurs de type kaïnate sont des homo- ou hétéro-tétramères composés de l'assemblage de cinq sous-unités : GluK1, GluK2, GluK3, GluK4 et GluK5. Les canaux ioniques formés par les récepteurs de type kaïnate sont perméables au sodium, au potassium et faiblement au calcium. Cette perméabilité calcique est dépendante de l'édition des différentes sous-unités. Comme pour la sous unité GluA2 des récepteurs de type AMPA, GluK1 et GluK2 peuvent être édités au niveau du domaine M2 sur le site Q/R. Le remplacement de glutamine par l'arginine diminue la perméabilité des récepteurs (Burnashev et al., 1995). Contrairement à GluK1 et GluK2, la sous-unité GluK3 n'est pas éditée au site Q/R ce qui lui permet de former des récepteurs perméables au calcium.

Les récepteurs de type NMDA sont responsables de la transmission synaptique "lente" dans le SNC et participent à l'intégration du signal excitateur. Les récepteurs NMDA sont des tétramères formés à partir des sept sous-unités suivantes : GluN1, GluN2A à GluN2D, GluN3A et GluN3B. La sous-unité GluN1 est obligatoire pour le fonctionnement du récepteur car elle permet l'adressage du récepteur NMDA à la membrane (McIlhinney et al., 1996). Les récepteurs sont formés d'un dimère de GluN1 et d'un dimère GluN2 ou GluN3. Les récepteurs NMDA sont perméables aux cations monovalents et au calcium. Contrairement aux autres récepteurs ionotropiques du glutamate, l'activation des récepteurs NMDA nécessite la liaison simultanée du glutamate et d'un co-agoniste (glycine ou D-sérine ; Johnson and Ascher, 1987; Kleckner and Dingledine, 1988). Au voisinage du potentiel membranaire de repos du neurone (-80 à -70 mV), le pore du canal est bloqué par les ions magnésium. Une

dépolarisation membranaire jusqu'à -40 mV permet de lever le blocage magnésium et de rendre le récepteur NMDA perméant. Cette propriété singulière fait du récepteur NMDA un détecteur de coïncidence entre la dépolarisation postsynaptique et la libération du glutamate présynaptique et place ce récepteur comme support moléculaire de certaines plasticités à long terme comme la potentialisation à long terme dépendante des récepteurs NMDA autrement appelée PLT postsynaptique (Harris et al., 1984).

A la synapse FM-CA3, tous les types de récepteurs ionotropiques du glutamate sont exprimés. Les récepteurs AMPA et kaïnate sont fortement exprimés alors que les récepteurs NMDA sont moins exprimés que dans d'autres synapses corticales (Lei and McBain, 2002). Les récepteurs AMPA et NMDA sont majoritairement exprimés au niveau postsynaptique alors que les récepteurs kaïnate sont exprimés à la fois au niveau postsynaptique (GluK2, GluK4, GluK5; Mulle et al., 1998; Contractor et al., 2003; Fernandes et al., 2009) et présynaptique (GluK2, GluK3 ; Pinheiro et al., 2007). Au niveau postsynaptique, les récepteurs kaïnate contribuent aux courants postsynaptiques excitateurs (CPSEs ; Castillo et al., 1997a; Vignes and Collingridge, 1997). En présynaptique, les récepteurs kaïnate peuvent fonctionner comme des autorécepteurs (activés par le glutamate libéré par la synapse qui les exprime) et seraient impliqués dans les plasticités à court terme comme la facilitation en fréquence (Pinheiro et al., 2007) et des plasticités à long terme comme la PLT présynaptique (Bortolotto et al., 1999; Contractor et al., 2001; Lauri et al., 2001; Pinheiro et al., 2007; Carta et al., 2014).

b) Les récepteurs métabotropiques du glutamate

Le glutamate peut activer des récepteurs métabotropiques couplés à des protéines G. Ces récepteurs sont classés en trois groupes différents : le groupe I avec les sous-unités mGluR1 et mGluR5, le groupe II avec les sous-unités mGluR2 et mGluR3 et le groupe III avec les sous-unités mGluR4, mGluR6, mGluR7 et mGluR8. Les récepteurs du groupe I sont couplés positivement à la phospholipase C et à la formation d'IP3. Les récepteurs du groupe I sont généralement localisés au niveau postsynaptique. Les récepteurs des groupes II et III sont couplés négativement à l'adénylyl cyclase entraînant une diminution de l'activité de la PKA et donc une diminution de la libération de neurotransmetteurs. Ces récepteurs sont généralement localisés sur l'élément présynaptique. Certains récepteurs métabotropiques pour le glutamate sont exprimés à la synapse FM-CA3 aussi bien en présynaptique (groupe II)

qu'en postsynaptique (groupe I ; Kamiya et al., 1996; Lujan et al., 1996; Shigemoto et al., 1997).

E. Plasticités synaptiques à la synapse FM/CA3

Contrairement aux synapses électriques, les synapses chimiques montrent une grande propension à adapter l'efficacité de leur transmission en fonction du patron d'activation présynaptique. Ce processus d'adaptation est appelé plasticité synaptique. Ces modifications peuvent aboutir à une dépression synaptique lorsque la transmission synaptique est diminuée ou une potentialisation synaptique lorsque la transmission synaptique est augmentée.

1. Plasticités à court terme

La synapse FM-CA3 est une synapse unique pour l'expression de différentes formes de plasticités à court terme (Nicoll and Schmitz, 2005).

La facilitation en paire (*i.e* PPF : Paired-Pulse Facilitation) est une forme de plasticité à court terme qui intervient lorsque deux stimuli séparés par un faible intervalle sont appliqués et produisent une forte potentialisation de la réponse postsynaptique lors de la seconde stimulation comparée à la première (Salin et al., 1996 ; Figure 10). Cette forme de plasticité est en grande partie expliquée par la concentration de calcium résiduel présent dans le bouton présynaptique après la première stimulation. Ce calcium résiduel s'ajoute à l'entrée de calcium pendant la seconde stimulation et il en résulte une potentialisation de la deuxième réponse postsynaptique. Les mécanismes moléculaires qui sous-tendent cette PPF restent néanmoins mal connus.

La facilitation en fréquence (FF) est une autre forme de plasticité à court terme importante à la synapse FM-CA3. La FF est une potentialisation des réponses postsynaptiques induite par une augmentation de la fréquence de décharge des cellules granulaires (Figure 10). Cette FF peut être observée pour des faibles fréquences (0.1Hz -10Hz ; Salin et al. 1996). Les mécanismes moléculaires de cette plasticité à court terme sont mal connus. La FF dépendrait en partie du calcium présynaptique, de la kinase de type II dépendante de la Ca^{2+} -Calmoduline (CamKII ; Salin et al. 1996) et de récepteurs du glutamate de type kainate (KAR) présynaptiques (Contractor et al., 2001; Pinheiro et al., 2007).

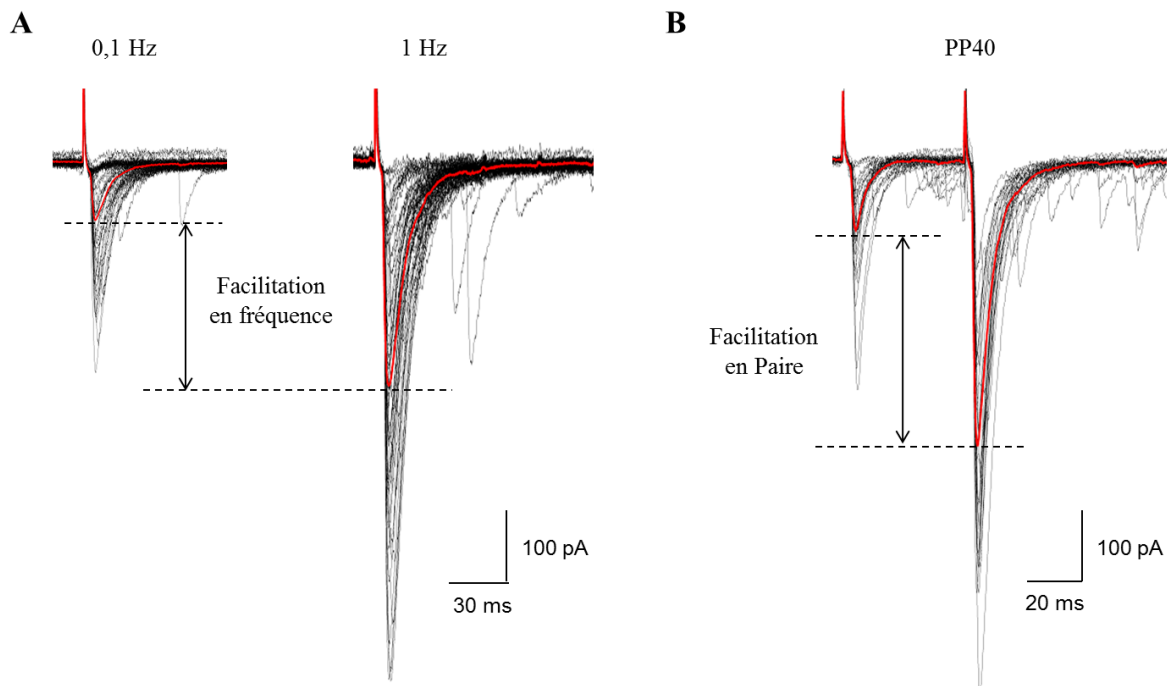


Figure 10. Les plasticités à court terme à la synapse FM-CA3

A. Courants postsynaptiques excitateurs (CPSEs) superposés, enregistrés au niveau d'une cellule pyramidale CA3 après stimulation d'une fibre moussue à une fréquence de 0.1 Hz puis 1 Hz. Les moyennes des enregistrements sont illustrés en rouge et la différence d'amplitude entre la moyenne des enregistrements à 0.1 Hz et 1 Hz est appelée la facilitation en fréquence. B. CPSEs enregistré après deux stimulations espacées de 40 ms. L'augmentation de l'amplitude moyenne des CPSEs lors de la seconde stimulation est la facilitation en Paire.

2. Plasticités à long terme

a) *Potentialisation à long terme (PLT)*

De nombreuses synapses du SNC sont capables de changements à long terme de leur puissance en fonction de l'activité synaptique. La forme la plus étudiée est la potentialisation à long terme (PLT) des réponses synaptiques après des stimulations répétées à haute fréquence. Cette PLT est retrouvée à de nombreuses synapses autres que celles de l'hippocampe, et requiert l'activation de récepteurs NMDA postsynaptiques entraînant une augmentation de l'activité des récepteurs AMPA.

La PLT à la synapse FM-CA3 est fondamentalement différente de celle archétypique retrouvée à la majorité des synapses du SNC puisque cette plasticité est indépendante des récepteurs NMDA et est exprimée principalement au niveau présynaptique (Nicoll and Malenka, 1995 ; Figure 11). En effet le blocage des récepteurs NMDA par le D-AP5 n'a pas d'effets sur le PLT à la FM-CA3 (Harris and Cotman, 1986; Zalutsky and Nicoll, 1990). Il

existe deux hypothèses pour expliquer l'absence d'implication des récepteurs NMDA dans la PLT à cette synapse. Les récepteurs NMDA seraient exprimés en faible quantité à la synapse FM-CA3 et certains éléments de l'adressage des récepteurs AMPA à la synapse, essentiels pour l'expression de la PLT NMDA-dépendante, seraient absents à cette synapse (Kakegawa et al., 2004; Nicoll and Schmitz, 2005).

Les récepteurs kaïnate sont aussi impliqués dans l'induction de la PLT. L'activation des récepteurs kaïnate entraîne une augmentation de calcium dans le compartiment présynaptique et facilite l'induction de la PLT (Bortolotto et al., 1999; Contractor et al., 2001; Lauri et al., 2001; Pinheiro et al., 2007; Carta et al., 2014). Le calcium entrant par les récepteurs kaïnate activerait également les récepteurs de la Ryanodine (RyR) du réticulum endoplasmique provoquant une libération de calcium qui facilite l'induction de la PLT (Lauri et al., 2003 ; Figure 11).

Les canaux calciques présynaptiques de type R sont fortement exprimés dans le *gyrus* dentelé (Day et al., 1996) et leur blocage provoque une diminution de la PLT sans affecter la transmission basale (Breustedt et al., 2003).

Il résulte de ces voies d'entrée, ou de libération de calcium dans le compartiment présynaptique, une activation des adénylyls cyclases de type 1 (Villacres et al., 1998; Wong et al., 1999; Otto et al., 2001) et de type 8 (Wang et al., 2003). Cette activation conduit à une augmentation de la concentration en AMP cyclique et une activation de la PKA (Weisskopf et al., 1994 ; Figure 11). L'expression de la PLT est dépendante de l'activité de la PKA et plusieurs cibles ont été identifiées, notamment au niveau de la machinerie de libération des vésicules de neurotransmetteurs. Les protéines synaptiques phosphorylées par la PKA les plus étudiées sont les synapsines. D'autres protéines associées aux vésicules sont les cibles de la PKA. La Rabphilin 3A (Castillo et al., 1997b), Rim1 α (Chevaleyre and Castillo, 2002) et la synaptotagmin 12 (Kaeser-Woo et al., 2013) sont des cibles de la PKA essentielles pour l'expression de la PLT à cette synapse. D'autre part l'augmentation des courants I_h générée par la PKA pourrait également participer à l'expression de la PLT en entraînant une dépolarisation de la membrane présynaptique (Mellor et al., 2002) mais ceci reste controversé puisque des bloqueurs spécifiques des courants I_h sont sans effets sur la PLT à cette synapse (Chevaleyre and Castillo, 2002).

Si l'induction de la PLT à cette synapse est essentiellement présynaptique, l'existence d'un mécanisme d'induction postsynaptique a été suggérée par le blocage de la PLT suite à la

perfusion de peptides qui empêche la liaison des protéines postsynaptiques EphB aux protéines éphrineB3 présynaptiques. Cette liaison transynaptique EphB/éphrineB3 permettrait l'augmentation de la transmission synaptique, sans que les mécanismes à l'œuvre soient connus (Contractor et al., 2002).

La synapse FM-CA3 est incapable de développer une PLT postsynaptique conventionnelle en condition basale. Néanmoins si les courants NMDA sont préalablement potentialisés, alors cette synapse peut exprimer une PLT postsynaptique NMDA-dépendante classique. Cette métaplasticité permet donc à la synapse FM-CA3 d'exprimer une PLT postsynaptique après induction d'une PLT des récepteurs NMDA postsynaptiques (Rebola et al., 2008, 2011).

b) Dépression à long terme (DLT)

De nombreuses synapses du SNC expriment une dépression à long terme (DLT) NMDA-dépendante, qui à l'inverse de la PLT entraîne une diminution de l'efficacité de la transmission synaptique à long terme. Le protocole utilisé pour induire ce type de plasticité est une stimulation à faible fréquence (généralement 1 Hz) pendant plusieurs minutes. La DLT à la synapse FM-CA3 est induite par l'activation des récepteurs métabotropiques du glutamate mGluR2 (Yokoi et al., 1996; Kobayashi et al., 1996).

Comme pour la PLT, la DLT implique dans un premier temps une augmentation du Ca^{2+} présynaptique et une libération de neurotransmetteurs (Kobayashi et al., 1999). Le glutamate libéré sur plusieurs minutes active les récepteurs mGluR2 présynaptiques couplés à une protéine G inhibitrice (Gi/o). L'activation de la protéine Gi/o inhibe l'adénylyl cyclase ce qui entraîne une diminution de l'activité de la PKA et une dépression à long terme de la libération de neurotransmetteurs (Tzounopoulos et al., 1998 ; Figure 12).

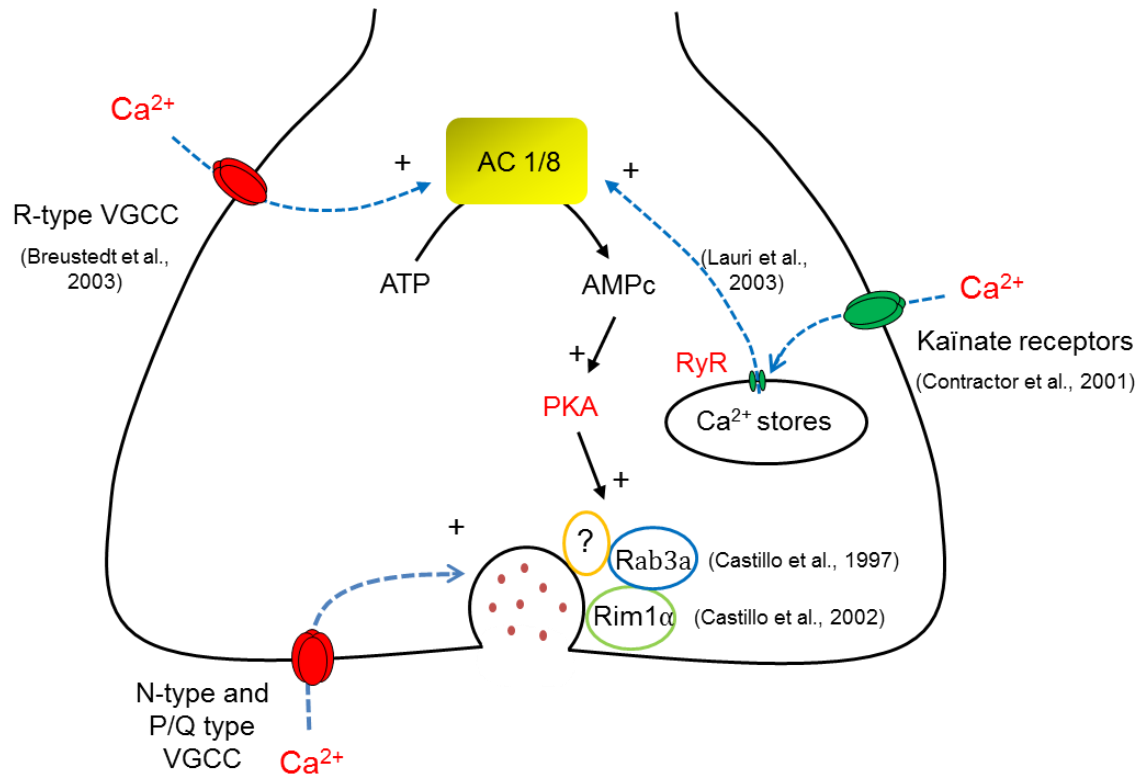


Figure 11. La potentialisation à long terme présynaptique (PLT) à la synapse FM-CA3

La potentialisation à long terme (PLT) à la synapse FM-CA3 est exprimée de façon présynaptique. Le calcium entrant par les canaux calciques de type R augmente l'activité des adénylyl cyclases de type 1 et 8 (AC1 et AC8), déclenchant une augmentation d'AMPc qui active PKA. La PKA phosphoryle ses cibles au niveau de la machinerie de libération vésiculaire augmentant ainsi la libération de glutamate. Le calcium entrant par les récepteurs kaïnate présynaptiques peut aussi déclencher la libération de calcium intracellulaire en activant les récepteurs à la ryanodine (RyR). Le calcium libéré va augmenter l'activité de l'AC1 aboutissant à une augmentation de la libération de glutamate.

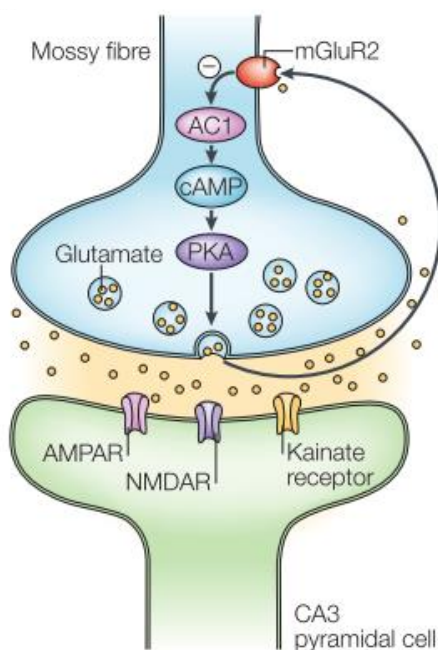


Figure 12. La dépression à long terme présynaptique (PLT) à la synapse FM-CA3

La dépression à long terme (DLT) à la synapse FM-CA3 fait intervenir les mêmes partenaires intracellulaires que la PLT. Le glutamate libéré se lie aux récepteurs mGluR2 présynaptique, des récepteurs du glutamate couplés à une protéine G inhibitrice (Gi/o). Cette liaison entraîne l'inhibition de l'activité d'AC1 produisant une diminution d'AMPc et de l'activité de la PKA. Le résultat est une diminution de la libération de glutamate. (Modifié d'après Nicoll and Schmitz, 2005)

F. Rôles fonctionnels de la synapse FM-CA3

Les propriétés uniques de la synapse FM-CA3 permettent d'envisager des rôles fonctionnels particuliers de cette synapse. Le rôle le plus communément accepté est celui de "synapse détonatrice". Ce terme de détonateur est lié au fait qu'à chaque fois qu'une cellule granulaire décharge, toutes les cellules pyramidales CA3 connectées à cet axone vont aussi déclencher des PA. Cette hypothèse de détonateur implique que les cellules pyramidales CA3 ont un seuil de déclenchement des PA fixe et que l'activité synaptique des fibres moussues est toujours capable de permettre le franchissement de ce seuil. Néanmoins, le déclenchement d'un PA dans les cellules pyramidales est un événement complexe résultant de l'interaction de plusieurs facteurs, comme l'historique récent de décharge du neurone, les variations de son potentiel membranaire et la balance entre les afférences excitatrices et inhibitrices. Du fait de la complexité du déclenchement d'un PA et de la variabilité des réponses synaptiques des fibres moussues, il semble improbable que l'activation d'une seule synapse FM-CA3 entraîne le déclenchement d'un PA dans la cellule CA3. Néanmoins dans certaines conditions les réponses synaptiques sont assez fortes pour permettre ce déclenchement. Les travaux portant sur ces conditions particulières ont permis de mieux comprendre le fonctionnement de cette synapse et de la définir comme un "détonateur conditionnel".

En plus de sa fonction de détonateur conditionnel, la synapse FM-CA3 fonctionnerait aussi comme une synapse discriminante. Tout d'abord, la synapse peut agir comme un discriminateur d'amplitude. En effet, les réponses synaptiques dont l'amplitude atteint un certain seuil vont provoquer le déclenchement de PA dans les cellules CA3 connectées. Ensuite cette synapse peut agir comme un discriminateur de fréquence. En effet, l'amplitude des réponses synaptiques de la fibre moussue augmente avec la fréquence de stimulation. Environ 90 % des cellules granulaires du *gyrus* dentelé sont des cellules de place (Jung and McNaughton, 1993). Leur fréquence de décharge augmente lorsque l'animal se situe dans une position donnée dans l'espace. A l'extérieur de ce champ, une cellule granulaire décharge à faible fréquence (<0.05 Hz ; Jung and McNaughton, 1993) et a donc très peu d'influence sur l'activité des cellules pyramidales de CA3. En revanche, quand l'animal pénètre à l'intérieur du champ d'activation de la cellule granulaire, la fréquence de décharge de cette cellule augmente drastiquement. La FF qui en résulte au niveau de la synapse FM-CA3 induit une augmentation très rapide des amplitudes des réponses postsynaptiques entraînant une décharge de PA dans les cellules pyramidales CA3 (Henze et al., 2002). En raison de cette

facilitation en fréquence, la synapse FM/CA3 agit donc comme un détonateur conditionnel (Henze et al., 2000). Enfin la synapse FM-CA3 peut agir comme un discriminateur temporel. En effet, la synapse peut ignorer les informations venant des afférences "non-fibre moussue" pendant un bref intervalle suivant l'activation d'une cellule CA3 par une fibre moussue (Urban et al., 2001). Ces conditions particulières nécessaires à l'activation des cellules CA3 font de la synapse FM-CA3 un détonateur conditionnel agissant par discrimination de différentes propriétés des réponses synaptiques.

V. Déficits synaptiques dans la MA

Les déficits synaptiques sont étroitement corrélés avec les déficits cognitifs (DeKosky and Scheff, 1990; Terry et al., 1991; Serrano-Pozo et al., 2011). L'altération des fonctions synaptiques apparaît tôt dans la maladie, suggérant une atteinte précoce spécifique des synapses avant la neurodégénérescence observée pour des stades plus tardifs (Arendt, 2009). L'analyse *post mortem* des cerveaux de patients atteints de la MA montre des déficits dans l'expression de gènes impliqués dans le trafic des vésicules synaptiques dans l'hippocampe (Begcevic et al., 2013) et dans le cortex (Yao et al., 2003). Sachant que les fonctions synaptiques de l'hippocampe sont à l'origine de la formation de la mémoire et de l'apprentissage (Cooper and Bear, 2012), la perte des fonctions cognitives qui signe la maladie d'Alzheimer pourrait être expliquée tout au moins en partie par la réduction progressive de l'intégrité et de la fonctionnalité synaptique (Selkoe, 2002).

A. Implication du peptide A β dans les déficits synaptiques

De nombreuses études portant sur les déficits synaptiques et la MA se sont focalisées sur le peptide A β . Ces études suggèrent que les déficits cognitifs précoces rencontrés dans la MA sont dus à l'action des oligomères A β sur la transmission et sur les plasticités synaptiques dans l'hippocampe et le cortex (Selkoe, 2002).

L'action des oligomères A β sur la synapse a principalement été étudiée *in vitro* par exposition aiguë d'oligomères synthétiques sur des neurones en culture. Ces oligomères modifient la morphologie des épines dendritiques, provoquent une perte synaptique par des

mécanismes impliquant la calcineurine (Hsieh et al., 2006; Shankar et al., 2007) et altèrent le transport axonal via les récepteurs NMDA par un mécanisme dépendant de la glycogène synthase kinase GSK-3 β (Shankar et al., 2007; Decker et al., 2010). Les oligomères d'A β affectent le trafic des sous-unités GluN1 et GluN2B à la membrane plasmique, possiblement via des récepteurs cholinergiques nicotiniques $\alpha 7$, entraînant une diminution de la PLT (Snyder et al., 2005) et perturbent la recapture de glutamate entraînant à la fois une augmentation de la DLT et une diminution de la PLT (Li et al., 2009, 2011). Il convient de noter qu'il n'existe pas à ce jour de preuves directes de la liaison entre l'A β et les récepteurs NMDA.

Les oligomères et les fibrilles d'A β peuvent se lier sur les récepteurs cholinergiques nicotiniques $\alpha 7$ avec une forte affinité (de l'ordre du pM). La forme oligomérique agirait comme un agoniste en augmentant l'influx calcique (Dougherty et al., 2003) tandis que la forme fibrillaire agirait comme un antagoniste puisque sa liaison au récepteur $\alpha 7$ entraîne une neurotoxicité sans augmentation du calcium intracellulaire (Lilja et al., 2011). A β_{42} qui est la forme la plus à même de former des agrégats, est plus efficace dans sa capacité à diminuer la PLT et la densité synaptique par rapport à A β_{40} (Kessels et al., 2010).

B. Implication de la protéine Tau dans les déficits synaptiques

Les fonctions synaptiques de la protéine Tau sont peu connues (Crimins et al., 2013). Tau est impliquée dans l'hyperexcitabilité de réseaux neuronaux de l'hippocampe (décharges spontanées des cellules pyramidales de CA3) dans des modèles murins d'épilepsie (Holth et al., 2013). La réexpression de Tau humain chez des souris n'exprimant plus Tau entraîne des déficits synaptiques et des altérations de la transmission synaptique (Polydoro et al., 2009). La protéine Tau peut avoir une action synaptotoxique sous sa forme soluble ou en agrégats. Dans les cerveaux de patients atteints de la MA, les neurones possédant des agrégats de Tau présentent une expression diminuée de la synaptophysine, une protéine associée aux vésicules synaptiques (Callahan and Coleman, 1995). Néanmoins la forme soluble de la protéine Tau semblerait la plus toxique. En effet, chez la souris Tg4510, un modèle de tauopathie, les déficits synaptiques et la mort neuronale apparaissent à des stades précoces avant l'apparition des agrégats de Tau, suggérant que l'accumulation de la forme soluble de Tau entraîne des déficits synaptiques. L'accumulation de la forme soluble de Tau entrainerait une localisation

aberrante de la sous unité GluN2B des récepteurs NMDA (Ma et al., 2013). D'autre part, la protéine Tau hyperphosphorylée bloque le transport axonal antérograde des mitochondries, organelles essentiels à la transmission synaptique (Mandelkow et al., 2003), jusqu'au bouton présynaptique (Reddy, 2011; Gilley et al., 2012). *In vitro*, les oligomères de Tau augmentent la susceptibilité des mitochondries au stress oxydatif (Schulz et al., 2012) et dérèglent la fusion et la fission de leurs membranes (DuBoff et al., 2012). Il est à noter que cette fusion/fission est dérégulée dans la MA (Wang et al., 2009). Une stratégie visant à prévenir la formation d'oligomères de Tau pourrait être une approche thérapeutique intéressante (Pooler et al., 2014).

C. Déficits synaptiques dans l'hippocampe

Des déficits synaptiques dans l'hippocampe sont observés bien avant le dépôt des plaques amyloïdes et la mort neuronale. Ils sont corrélés aux altérations des fonctions cognitives dans la MA (Selkoe, 2002; D'Amelio et al., 2011). De nombreuses études ont ainsi utilisé les modèles murins de la MA pour essayer de comprendre les mécanismes moléculaires qui sous-tendent ces déficits synaptiques. Les déficits synaptiques sont différents suivant les modèles animaux utilisés et la synapse étudiée (pour revue Marchetti and Marie 2011). Nous avons recensé ici les principaux déficits synaptiques retrouvés pour les trois principales synapses de l'hippocampe : la synapse classique CA3/CA1, la synapse entre la voie perforante et les cellules granulaires, et la synapse FM-CA3.

1. Déficits synaptiques à la synapse classique CA3-CA1

Pour les souris APPswe/PS1ΔE9, la transmission synaptique à la synapse entre les collatérales de Schaeffer (CS) et la cellule CA1 n'est pas différente des souris sauvages à 3 mois, 6 mois, 9 mois et 12 mois (Volianskis et al., 2010). Pour d'autres souris transgéniques APP/PS1, la transmission synaptique présente des déficits à partir de 7 mois (Gong et al., 2004; Chang et al., 2006; Trinchese et al., 2008) ou apparaît normale jusqu'à 20 mois (Gureviciene et al., 2004; Fitzjohn et al., 2010) et ce selon le génotype.

Les troubles cognitifs peuvent être causés par des déficits au niveau des plasticités à court terme et/ou à long terme. Pour la facilitation en paire à la synapse CS-CA1, l'ensemble des études menées sur les souris APP/PS1 rapportent une absence de déficits pour cette

plasticité de 3 (Fitzjohn et al., 2010) à 18 mois (Chang et al., 2006; Fitzjohn et al., 2010). Cependant les études menées sur la PLT à cette même synapse apparaissent contradictoires. Certaines études rapportent un déficit de la PLT à partir de 3 mois (Gong et al., 2004; Trinchese et al., 2004; Knobloch et al., 2007) alors que d'autres études montrent une PLT intacte jusqu'à 12 mois (Gureviciene et al., 2004; Fitzjohn et al., 2010). Il faut remarquer que la comparaison entre les différentes études est difficile en raison de variations dans les protocoles d'induction. Ainsi dans le cas des souris APP^{swe}/PS1 Δ E9, un déficit de PLT apparaît à partir de 3 mois uniquement dans le cas d'un protocole d'induction faible (Volianskis et al., 2010). La seule étude *in vivo* de la PLT chez des souris APP/PS1 rapporte un déficit de la PLT à partir de 8 mois (Gengler et al., 2010).

2. Déficits synaptiques à la synapse PP-GD

Pour les souris APP/PS1, la transmission synaptique basale à la synapse voie perforante - *gyrus* dentelé ne semble pas être affectée jusqu'à 18 mois (Gureviciene et al., 2004). Il n'existe aucune donnée pour cette synapse chez les souris APP^{swe}/PS1 Δ E9.

La facilitation en paire présente des déficits à partir de 3 mois pour les souris simples transgéniques APP (Palop et al., 2007; Harris et al., 2010; Cissé et al., 2011). Il n'existe aucune donnée pour les souris APP/PS1.

En ce qui concerne la potentialisation à long terme, les résultats sont assez homogènes pour les différentes souris APP/PS1 avec un déficit de la PLT à partir de 3 mois (Palop et al., 2007; Harris et al., 2010; Cissé et al., 2011). La seule étude sur cette synapse chez la souris APP^{swe}/PS1 Δ E9 rapporte un déficit de la PLT à partir de 9 mois (Yoshiike et al., 2008).

3. Déficits synaptiques à la synapse FM-CA3

Peu d'études ont été menées sur la synapse FM-CA3 dans le cadre de la MA. Pourtant cette synapse de l'hippocampe présente des plasticités présynaptiques bien particulières. La première étude réalisée à cette synapse sur un modèle simple transgénique Tg2576 possédant la mutation suédoise APP (APP^{swe}) rapporte une transmission synaptique basale normale pour des souris âgées de 24 mois (Witton et al., 2010). En revanche, les plasticités synaptiques à court terme sont impactées de façon différente: la facilitation en paire ne semble pas être affectée alors que la facilitation en fréquence à 1 Hz est fortement réduite (Witton et

al., 2010). Enfin, cette étude montre un déficit complet de la PLT à 24 mois (Witton et al., 2010). Sur le même modèle murin Tg2576, la transmission synaptique basale et la facilitation en paire sont normales à 12 mois et la PLT est augmentée (Jung et al., 2011). Enfin la Potentialisation Post Tétanique (PTP), un autre type de plasticité à court terme, est bloquée dès 3 mois (Lee et al., 2012).

OBJECTIFS DU TRAVAIL

Les signes cardinaux de la maladie d'Alzheimer (MA) sont une production pathologique du peptide β amyloïde et une hyperphosphorylation intraneuronale de la protéine Tau. A ces mécanismes moléculaires sont associés des déficits synaptiques et de profondes altérations cognitives. L'ensemble de ces caractéristiques moléculaires, cellulaires et cognitives de la pathologie s'inscrit dans un contexte de neuroinflammation chronique attesté par une forte activation gliale et la synthèse d'une myriade de médiateurs inflammatoires comme les cytokines, les chémokines et les prostanoïdes. Des études épidémiologiques indiquent que l'inhibition par des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) des enzymes limitantes de la synthèse des prostaglandines, les cyclooxygénases Cox-1 et Cox-2, diminue fortement la prévalence de la MA chez les personnes âgées.

PGE₂ est l'une des principales prostaglandines produite dans le cerveau dont l'expression est fortement augmentée au cours de la pathologie et ce dès les stades précoces. Selon le sous type de récepteur mobilisé, PGE₂ peut moduler la transmission et/ou les plasticités synaptiques dans l'hippocampe, l'une des structures clés dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation qui est lourdement impactée dans la MA.

Dans les stades précoces de la pathologie, de nombreux travaux rapportent l'existence de déficits synaptiques, notamment dans l'hippocampe. Ces travaux se sont focalisés sur les déficits de la plasticité postsynaptique qui dépend des récepteurs NMDA à la synapse archétypique de l'hippocampe formée entre les cellules pyramidales CA3 et CA1. A l'inverse, la synapse formée entre les fibres moussues et les cellules pyramidales CA3 (FM-CA3) exprime des plasticités présynaptiques atypiques, à court et à long terme, indépendantes des récepteurs NMDA. Il n'existe que très peu d'études concernant ces plasticités dans le contexte de MA. Si certaines études ont mis en évidence des effets modulateurs de PGE₂ sur l'activité de la synapse CA3-CA1, ici aussi aucune étude ne s'est intéressée à l'impact de PGE₂ sur les différentes formes de plasticités présynaptiques à court et long terme à la synapse FM-CA3. Dans ce contexte, nous avons étudié l'implication de PGE₂ et de ses récepteurs dans le fonctionnement physiologique et pathologique de la synapse FM-CA3 chez un modèle murin de la MA.

Le premier objectif de cette thèse a été orienté vers l'étude de l'action de PGE_2 sur la transmission synaptique et les différents types de plasticités synaptiques à la synapse FM-CA3. Pour cela nous avons utilisé la technique électrophysiologique de patch clamp en configuration cellule entière sur des tranches aigües d'hippocampe de souris sauvages jeunes (P19-P21) afin de caractériser les courants synaptiques en absence ou en présence de PGE_2 .

Les principaux résultats montrent que PGE_2 n'a aucune action sur la transmission synaptique basale et sur les plasticités présynaptiques à court terme. En revanche, l'application aigüe de PGE_2 entraîne un déficit dans la potentialisation à long terme présynaptique indépendante des récepteurs NMDA, en activant spécifiquement des récepteurs EP3 vraisemblablement exprimés par les fibres moussues. Notre hypothèse est que l'activation des récepteurs EP3 entraînerait une diminution de l'activité de l'adénylyl cyclase et en aval de l'activité de la protéine kinase A sur les cibles de la machinerie de libération vésiculaire.

Après avoir caractérisé les actions de PGE_2 sur la transmission basale et les différents types de plasticités présynaptiques à la synapse FM-CA3, notre étude a porté (i) sur la mise en évidence de déficits synaptiques à cette synapse dans un modèle murin amyloïde de la MA, la souris APP^{swe}/PS1 Δ E9 et (ii) sur le rôle potentiel de PGE_2 dans ces déficits. Pour cela nous avons enregistré, grâce à la technique de patch clamp et la technique des potentiels de champ, la transmission basale et les différents types de plasticités chez des souris transgéniques et sauvages.

Les principaux résultats montrent qu'à 9 et 12 mois, la transmission basale et les plasticités à court terme ne sont pas différentes comparées à celle de la souris sauvage. A 9 mois la PLT présynaptique ne semble pas être affectée chez la souris APP^{swe}/PS1 Δ E9 alors qu'à 12 mois une diminution significative de la PLT est observée. En parallèle, nous avons mesuré les concentrations de PGE_2 dans l'hippocampe chez la souris sauvage et la souris APP^{swe}/PS1 Δ E9 en fonction de l'âge. La concentration de PGE_2 est significativement augmentée chez la souris APP^{swe}/PS1 Δ E9 à partir de 12 mois. Nous avons ensuite étudié les mécanismes moléculaires à l'origine de ce déficit. En fonction des résultats obtenus dans la première partie de ce travail, nous avons choisi de bloquer les récepteurs EP3 chez la souris APP^{swe}/PS1 Δ E9 afin d'objectiver ou non la participation de cette voie de signalisation dans le déficit de la PLT observé à 12 mois.

L'application d'un antagoniste des récepteurs EP3 reverse partiellement la diminution de la PLT présynaptique observée chez la souris APP^{swe}/PS Δ E9. Ces résultats suggèrent que la signalisation PGE₂ - EP3 joue un rôle important dans le déficit d'une plasticité à long terme à la synapse FM-CA3 chez la souris transgénique APP^{swe}/PS Δ E9.

Résultats

Blockade of EP3 receptor rescues deficits in synaptic plasticity at hippocampal mossy fiber synapses in APPswe/PS1DE9 mouse model of Alzheimer's disease

Vincent Maingret^{1,2}, Séverine Deforges^{1,2}, Christophe Mulle^{1,2} and Thierry Amédée^{1,2*}

¹Interdisciplinary Institute for Neuroscience, CNRS UMR 5297

²University of Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France

*Correspondence: thierry.amedee@u-bordeaux.fr

SUMMARY

There is considerable evidence to suggest that neuroinflammation and Alzheimer's disease (AD) are intimately related. Among different inflammatory molecules expressed in the course of the pathology, prostaglandin E₂ (PGE₂) is known to modulate hippocampal synaptic transmission. In this study we investigated the effect of acute application of PGE₂ on basal synaptic transmission and presynaptic plasticity at hippocampal mossy fiber (Mf) synapses. We found that acute application of PGE₂ (10μM) on brain slices from young mice (P19-P21) had no effect both on basal transmission and short-term plasticity, whereas it strongly impaired Mf-CA3 long-term potentiation (LTP). This effect was mimicked by sulprostone (1μM), an EP3 receptor agonist and entirely blocked by the co-application of ONO-AE3-240 (1μM), a specific EP3 receptor antagonist. We then explored the possible involvement of this signaling pathway in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease, the APP^{swe}/PS1^{ΔE9} (APP/PS1) mouse. Hippocampal levels of PGE₂ in the hippocampus of APP/PS1 mice significantly increased at 12 and 15 months of age. We compared synaptic transmission and presynaptic plasticity in non-transgenic and APP/PS1 mice at 6, 9 and 12 months of age. No difference in either basal synaptic transmission or short-term plasticity was observed between non-transgenic and APP/PS1 mice whatever the age. In contrast, presynaptic Mf-CA3 LTP was impaired at 12 months in APP/PS1, in the same time window of increased levels of PGE₂. The impairment of LTP was entirely rescued by the application of ONO-AE3-240 (1μM). Overall, PGE₂ acting through EP3 receptor impairs long term synaptic plasticity at mossy fiber-CA3 synapses in a mouse model of Alzheimer disease, and suggests that neuroinflammatory molecules may impair cognitive processes by affecting presynaptic forms of plasticity.

Keywords: hippocampus, mossy fiber, presynaptic LTP, PGE₂, Alzheimer's disease, synaptic plasticity

INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD) is a progressive and devastating neurodegenerative disease characterized by early deficits in learning and memory processes. Two well established cellular and molecular hallmarks of the disease have been extensively investigated in the brain of AD's patients since the first description by Alois Alzheimer in 1907: the presence of extracellular plaques composed of amyloid- β (A β) protein and the expression of neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau protein. The time sequence of these cellular and molecular events and their relative contribution to the pathophysiology of AD is still a matter of intense debate. However it is doubtless that neuroinflammation that involves activation of glial cells, plays a key role in the pathophysiology of AD (Heneka & Obanion, 2007; Sastre, Klockgether, & Heneka, 2006 for review).

There is considerable evidence suggesting that the progression of the disease involves neuroinflammation which sets a vicious circle where further glial activation enhances neuronal degeneration driving in turn more glial activation (Akiyama et al., 2000; Mrak and Griffin, 2005; Sastre et al., 2006; Heneka and Obanion, 2007). The pivotal role of neuroinflammation in AD has been highlighted first by epidemiological studies revealing that a chronic intake of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) was associated with a reduced prevalence of the disease by 40 to 70% (McGeer et al., 1996; in t' Veld et al., 2001; Breitner and Zandi, 2001). However, clinical trials with different NSAIDs failed to cure or even alleviate the severity of the disease (McGeer and McGeer, 2007). Recent re-analysis of the clinical trials showed that treatments given to asymptomatic individuals had beneficial effects whereas when given to patients at late stages of AD, they were harmful (Breitner et al., 2011; Leoutsakos and Muthen, 2012).

When activated, glia release a plethora of neuroinflammatory molecules such as inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-11 and TNF α), chemokines, acute phase proteins, complement proteins but also prostaglandin E₂ (PGE₂) (Eikelenboom et al., 1994). PGE₂ is produced from arachidonic acid first converted to prostaglandin G₂ then reduced to prostaglandin H₂ (PGH₂) by two rate-limiting enzymes, Cox-1 and Cox-2 (Smith et al., 1991). Then PGH₂ is converted to PGE₂ by the microsomal prostaglandin-E2 synthase (mPGES). Cox-1 and Cox-2 are expressed by hippocampal neurons (Yasojima et al., 1999) but also by astrocytes and microglia (Font-Nieves et al., 2012). It is generally considered that Cox-1 is

constitutively expressed, whereas Cox-2 and mPGES are strongly activated by and during neuroinflammation (Font-Nieves et al., 2012).

Few lines of evidence highlight a pivotal role for PGE₂ in the pathophysiology of AD. PGE₂ is a primary target of NSAIDs; its level is elevated together with the expression of Cox-2 in AD's brains (Kitamura et al., 1999; Yasojima et al., 1999; Montine et al., 1999). In Tg2576 mice, a transgenic mouse model surexpressing the human amyloid precursor protein (APP) gene, long term potentiation (LTP) is impaired at the CA3-CA1 synapse (Chapman et al., 1999; Kotilinek et al., 2008). This impairment is mimicked in wild type mice by the external addition of either PGE₂ or synthetic Aβ (Kotilinek et al., 2008). A pretreatment with NS398, a specific antagonist of Cox-2, partially restores Aβ-induced impairment of LTP suggesting that Aβ acted via the generation of PGE₂ (Kotilinek et al., 2008). Very relevant to a pivotal role of PGE₂, Aβ stimulates PGE₂ production by microglial cells, astrocytes and neurons (Hoozemans et al., 2008) which stimulates in turn Aβ production (Hoshino et al., 2007). Such knowledge is most wanted in the context of AD, which relies, at least in its early stage, on synaptic dysfunction and loss, subsequently coined as "synaptic failure" (Selkoe, 2002; Jacobsen et al., 2006; Sheng et al., 2012).

Synapses between mossy fibers (Mfs) originating from the dentate gyrus (DG) and CA3 pyramidal cells (Mf-CA3 synapses) display a wide dynamic range of presynaptic plasticity, including prominent short-term plasticity and a form of LTP which is independent of NMDA receptors (Salin et al., 1996; Henze et al., 2002; Nicoll and Schmitz, 2005). The DG-CA3 circuit is involved in the storage of information and mnemonic processes such as pattern completion (Nakazawa et al., 2002) and pattern separation (Bischofberger et al., 2006), which may be of relevance in AD conditions. Nonetheless alterations of Mf synaptic function in the context of AD are poorly known. Short-term and long-term Mf-CA3 synaptic plasticity are altered in senescent transgenic Tg2576 mice (24-25 months old), that is long after a massive load of amyloid plaques (Witton et al., 2010). Post-tetanic potentiation of Mf-CA3 synapses is reduced in 2 months old Tg2576 mice tentatively via mitochondrial dysfunction of DG cells (Lee et al., 2012).

We thus characterized the effects of PGE₂ at Mf-CA3 synapses both in wild type mice and in a double transgenic mouse model of familial AD, the APP^{swe}/PS1^{ΔE9} (APP/PS1) mice. These mice are characterized by an over production of Aβ protein leading to deposits

throughout the brain, including the hippocampus, starting at 6 months of age with a noticeable load of plaques reported by 12 months of age (Chishti et al., 2001; Jankowsky et al., 2004; Burgess et al., 2006). These mice display synaptic dysfunction and learning deficits by 6-7 months of age that is before the occurrence of a massive load of amyloid plaques (Reiserer et al., 2007; Volianskis et al., 2010; Lagadec et al., 2012)

We have observed that in young wild type mice PGE₂ does not affect basal synaptic transmission and short term plasticity, but strongly impairs Mf-CA3 presynaptic long term potentiation (LTP) via an EP3 receptor. In APP/PS1 mice, we found that the hippocampal level of PGE₂ was significantly increased at 12 and 15 months of age compared to wild type littermates. Whereas basal synaptic transmission and short term plasticity were not affected in APP/PS1 mice, presynaptic Mf-CA3 LTP was impaired at 12 months in parallel to the increase in hippocampal level of PGE₂. Furthermore, the impairment of LTP in APP/PS1 mice was entirely rescued by the blockade of EP3 receptor. In summary, our data provide the first evidence that PGE₂ through EP3 receptor impairs presynaptic long term plasticity at the Mf-CA3 synapse. These results establish the EP3 receptor as a potential selective target to restore impaired plasticity at this synapse in a mouse model of Alzheimer disease. Considering the physiological roles of PGE₂, the selective targeting of the EP3 receptor may turn to be more advantageous for therapeutical strategies than the global inhibition by NSAIDs.

MATERIALS & METHODS

Ethical approval

Animal anaesthesia and euthanasia procedures were carried out in accordance with the Animal Protection Association of ethical standards and the French legislation concerning animal experimentation, and were approved by the University of Bordeaux/CNRS Animal Care and Use Committee (#55).

Animals

The animals used in this study were male APP/PS1 mice obtained from Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA) and their Wild Type (WT) littermates (C57BL6/J). The APP/PS1 mice express a chimeric mouse/human amyloid precursor protein APP^{swe} (mouse APP695 harboring a human Aβ domain and mutations K595N and M596L linked to Swedish FAD)

(Lim et al, 2000) and a human presenilin 1 mutated in familial AD (PS1 Δ E9; deletion of exon 9). Mice were allowed free access to food and water and maintained in a 12 h dark-light cycle. Mice were genotyped and systematically regenotyped after each experiment using transcript-specific primers (Table 1).

Table 1. Mouse q-PCR primer sequences for APP/PS1 genotyping

	GeneID	Forward Sequence (5'-3')	Reverse Sequence (5'-3')
Pm	19122	CCTCTTTGTGACTATGTGGACTGATGTCGG	GTGGATAACCCCTCCCCAGCCTAGACC
APP	351	GACTGACCACTCGACCAGGTTCTG	CTTGTAAGTTGGATTCTCATATCC
Il-2	16183	CTAGGCCACAGAATTGAAAGATCT	GTAGGTGGAAATTCTAGCATCATCC
PS1	5663	AATAGAGAACGGCAGGAGCA	GCCATGAGGGCACTAATCAT

Slice preparation

C57BL6/J mice (P19-P21) were sacrificed by cervical dislocation. The brain was quickly removed from the skull and chilled in ice-cold low-calcium artificial CSF (aCSF) containing the following (in mM): 87 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 0.5 CaCl₂, 7 MgCl₂, 10 glucose, 25 NaHCO₃ and 75 sucrose with pH 7.4 adjusted by saturating with carbogen (95% O₂ and 5% CO₂), and an osmolarity of 300-310 mOsm. Isolated brains were glued onto the stage of a vibratome (VT 1200S, Leica Microsystems, Nussloch, Germany) and parasagittal hippocampal slices (320 μ m) were cut. Slices were then transferred in an extracellular solution containing the following (in mM): 129 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 11 glucose, 25 NaHCO₃ equilibrated with 95% O₂ and 5% CO₂ (310-320 mOsm) for 30 minutes at 33°C and thereafter maintained at room temperature until required.

APP/PS1 and WT mice at 6, 9 and 12 months old were anaesthetized with a mix of ketamine (80 mg/kg; i.p) and xylazine (16 mg/kg; i.p) and then intracardially perfused for 2-3 minutes with a solution at 4°C containing the following (in mM): 2 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 0.4 CaCl₂, 8 MgCl₂, 22 glucose, 26 NaHCO₃, 20 sucrose, 2.8 pyruvic acid, 0.4 ascorbic acid, equilibrated with 95% O₂ and 5% CO₂ (310-320 mOsm). Then the mouse was sacrificed and the brain was quickly removed from the skull and stored in the same solution. Parasagittal brain slices (400 μ m) were cut in the same solution and then incubated at 33°C for 30 min in a resting solution containing the following (in mM): 103 NaCl, 2 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 0.27 CaCl₂, 8 MgCl₂, 22 glucose, 26 NaHCO₃, 0.4 ascorbic acid equilibrated with 95% O₂ and 5% CO₂ (300-310

mOsm). Slices were thereafter maintained at room temperature in the same solution until required.

Electrophysiological recordings

A slice was transferred into a recording chamber where it was submerged and continuously perfused with an oxygenated (95% O₂ and 5% CO₂) extracellular solution at 32-34°C. Whole-cell patch clamp recordings (3-4 MΩ electrodes, -70 mV holding potential) were made from hippocampal CA3 pyramidal neurons visualized by infrared video-microscopy. Patch clamp electrodes were pulled out from borosilicate glass (GF 150 F-10) and filled with an internal solution containing the following (in mM): 140 CsCH₃SO₃, 2 MgCl₂, 4 NaCl, 5 phospho-creatine, 2 Na₂ATP, 0.2 EGTA, 10 HEPES, and 0.33 GTP (pH 7.3) adjusted with CsOH. Bicuculline (10 μM) was added to the bath to inhibit GABA-A receptors.

Voltage-clamp recordings were performed on CA3 pyramidal neurons identified with a differential interference contrast microscope (Eclipse FN-1, Nikon, Champigny sur Marne, France) equipped with an infrared camera (VX 44, Till Photonics, Gräfelfing, Germany) using an Axopatch-200B amplifier (Axon Instruments, Sunnyvale, CA, USA). Signals were filtered at 2 kHz and digitized at 5 kHz via a DigiData 1322A interface (Axon instruments). Series resistance (10-20 MΩ) was monitored during the recording using a -10 mV hyperpolarizing voltage step of 50 ms length occurring at the beginning of each recording. Neurons were rejected if more than a 20% change in series resistance occurred during the experiment. Neurons with a holding current exceeding 300 pA at a holding potential of -70 mV were also rejected. Data were collected and analysed using pClamp software 9.2 (Axon Instruments).

Mf-CA3 excitatory post synaptic currents (EPSCs) were evoked by minimal intensity stimulation (Marchal and Mulle, 2004; Sachidhanandam et al., 2009). A glass microelectrode (~1 μm tip diameter) was placed in the hilus of the dentate gyrus to stimulate mossy fibers. The baseline stimulation frequency for all experiments was 0.1 Hz. Mf synaptic currents were identified according to the following criteria: robust low-frequency facilitation, low release probability at 0.1 Hz, rapid rise times of individual EPSC (~1 ms), and EPSCs decays free of secondary peaks that may indicate the presence of polysynaptic contamination. The group II mGluR agonist LCCG-1 (10 μM) was applied routinely to confirm that mossy fibers were actually stimulated.

Extracellular recordings were made from *stratum lucidum* using glass electrodes (1-2 M Ω) filled with extracellular solution. Field excitatory postsynaptic potentials (fEPSPs) were evoked in response to electrical stimuli applied via another glass electrode (1-2 M Ω) filled with extracellular solution placed in the *hilus* of the dentate gyrus. Signals were lowpass filtered at 20 kHz and digitally sampled at 50 kHz. All experiments were performed in the presence of D-AP5 (50 μ M) to block NMDA receptor activity, bicuculline (10 μ M) and CGP (3 μ M) to block respectively GABA-A and GABA-B receptors. Input-output curves were collected by varying stimulation strength from 40 μ A to 120 μ A in 40 μ A intervals. For subsequent experiments on basal transmission and synaptic plasticities, the stimulus strength was set to a level that produced 50% of the maximal responses.

Tissue Processing and Laser Capture Microdissection

P21, 6 and 9-month old C57/Bl6J (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA) were anesthetized with intraperitoneal administration of pentobarbital (50 mg/kg body weight) and the brain was removed and rapidly frozen on heptane and stored at -80°C until sectioning. For slicing, the frozen brain was mounted onto Tissue-Tek O.C.T compound (Sakura Finetek France, Villeneuve-d'Ascq, France) on a chuck and placed in a Leica CM3050S cryostat (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) for twenty minutes to equilibrate with the chamber temperature of -20°C . 60 μ m thick sections of the hippocampus region were cut and placed on polyethylene naphthalate (PEN) Membrane Frame slides (Carl Zeiss, Munich, Germany) under RNAase-free conditions. Then the slides were immediately placed on dry ice and stained on the same day using cresyl violet. Briefly, slides were transferred from dry ice into ice-cold 95% ethanol for 40 sec and incubated in 75% ethanol for 30 sec and in 50% ethanol for 30 sec. Specimens were briefly stained in 1% cresyl violet solution. Tissue sections were dehydrated through 50% ethanol (30 sec), 75% ethanol (30 sec), 95% ethanol (30 sec), followed by two 40 sec incubation in anhydrous 100% ethanol. Slides were dried for 5 minutes at room temperature. Immediately after dehydration, laser capture microdissection (LCM) was performed using a PALM MicroBeam microdissection system version 4.8 equipped with a P.A.L.M. RoboSoftware (P.A.L.M. Microlaser Technologies AG, Bernried, Germany). Microdissection was performed at 5X magnification. Samples were collected in adhesives caps (P.A.L.M. Microlaser Technologies AG, Bernried, Germany).

RNA isolation

RNA was processed and analyzed following an optimization of previously published protocols (Livak et al., 2001; Bustin et al., 2009). To limit RNA degradation, samples were collected for up to 30 minutes per slide, after which the LCM caps were placed on a sterile microcentrifuge tube containing 350 µl of lysis buffer. The samples were stored at -80°C until extraction was done.

Total RNA was extracted from microdissected tissues, *i.e.* CA3 and dentate gyrus, using the RNeasy micro Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's protocol and eluted with 14 µl of RNase-free water. The concentration of RNA was determined using Nanodrop 1000 and the integrity of RNA was determined using RNA 6000 Pico Kit and Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The RNA quality was assessed according to the RNA integrity number (RIN). A RIN threshold value of 7 was fixed and samples below this value were discarded.

Reverse Transcription

0.2 µg of total RNA was reverse transcribed to cDNA using RevertAid Premium Reverse Transcriptase (Fermentas) and primed with oligo-dT primers (Fermentas) and random primers (Fermentas).

Quantitative real-time PCR (q-PCR)

q-PCR was performed using a LightCycler 480 Real-Time PCR System (Roche, Meylan, France). q-PCR reactions were done in duplicate for each sample, using transcript-specific primers (Table 2), cDNA (4 ng) and LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche) in a final volume of 10 µl. The PCR data were exported and analyzed in an informatics tool (Gene Expression Analysis Software Environment) developed at the NeuroCentre Magendie. For the determination of the reference gene, the Genorm method was used (Bustin et al., 2009). Relative expression analysis was corrected for PCR efficiency and normalized against two reference housekeeping genes. The succinate dehydrogenase complex subunit A (Sdha) and glucuronidase beta (Gusb) genes were used as housekeeping genes for DG. The succinate dehydrogenase complex subunit (Sdha) and peptidylprolyl isomerase A (Ppia) genes were used as housekeeping genes for CA3. The relative level of expression was calculated using the comparative ($2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$) method (Livak and Schmittgen, 2001).

Table 2. Mouse q-PCR primer sequences.

Gene	GenBank ID	Forward Sequence (5'-3')	Reverse Sequence (5'-3')
Sdha	NM_023281	TACAAAGTGCGGGTCGATGA	TGTTCCCCAAACGGCTTCT
Ppia	NM_008907	CAAATGCTGGACCAAACACAA	GCCATCCAGCCATTTCAGTCT
Gusb	NM_010368	AGAAGTCTGTGGCCCACAACA	CAGCAGAGTGCCATCCTCTGT
Ptger3	NM_011196	CAGCAACCTGTCAAGTACTACCGA	TGACCATCATGGTGATGGGA

Immunostaining

WT and APP/PS1 mice at 9 and 12 months old of age were anesthetized with intraperitoneal administration of pentobarbital (50 mg/kg body weight) and were fixed by transcardial perfusion with 50 ml of 4% paraformaldehyde (PFA). Brain was removed and postfixed in 4% PFA overnight and then saturated in a solution with 30% sucrose for 24h. Then brains were frozen in cold heptane and store at -80°C. Brains were cut into 40 µM-thick frontal sections on a cryostat at -20°C. Sections were collected into antifreeze medium and stored at -20°C until the staining protocol. After a thorough wash in PBST (PBS 0.1M + 0.1 %Triton X-100), free-floating sections were incubated with NDS-T (5% Normal Donkey Serum with 0.1% Triton X-100) for 20 minutes at room temperature. Then sections were incubated with primary antibody in NDST overnight at 4°C (rabbit anti-IBA1: 1/10 000 Wako; mouse anti-Aβ₁₋₁₆:1/500 Millipore; rabbit anti-GFAP: 1/400 Sigma). After washes in PBST, sections were incubated with secondary antibodies for 2 hours (anti-rabbit Alexa 647: 1/200; anti-mouse Alexa 488: 1/200 or anti-rabbit Alexa 488 and anti-mouse Alexa 647). Slices were finally washed and mounted in mounting medium (vectashield).

Enzyme immunoassay (EIA) determination of PGE₂

Upon decapitation the brain was rapidly removed and hippocampus was took and immediately frozen into liquid nitrogen. The concentration of PGE₂ produced in hippocampus was quantified with a specific PGE₂ competitive EIA kit (ACETM EIA kit, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) following the procedures detailed in the instructions. The detection limit of this EIA kit was 15 pg/mL (80% B/Bo). Absorbance was measured at 415 nm by a microplate reader model 680 (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France).

Statistical analysis

Values are presented as mean \pm SEM of n experiments. Unless stated otherwise, a Student's t test for 2 groups and a one-way ANOVA with Bonferonni's test for more than two groups were used for statistical comparison. Statistical differences were considered as significant at $p < 0.05$. Statistical analysis was performed with Prism 5.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

Drugs

All drugs were obtained from Tocris biosciences or Sigma-Aldrich

RESULTS

PGE₂ does not affect basal transmission and presynaptic short-term plasticity at Mf-CA3 synapses

We tested the effects of PGE₂ on Mf-EPSCs recorded from CA3 neurons of P21 mice using the whole-cell voltage clamp mode. CA3 neurons were clamped at -70 mV and Mf-EPSCs were triggered using minimal intensity stimulation (Marchal and Mulle, 2004) at a low frequency (0.1 Hz). Bath application of PGE₂ (1-10 μ M) had no effect on the mean amplitude of Mf-EPSCs (55.4 pA \pm 7.6 pA in control condition, n=5; 50.0 pA \pm 7.7 pA with PGE₂, n=7; $p=0.9634$; Fig. 1A). We then looked at the effects of PGE₂ on paired-pulse facilitation (PPF) and frequency facilitation (FF), well characterized forms of presynaptic short-term plasticity displayed by Mf-CA3 synapses (Salin et al., 1996). PGE₂ (10 μ M) neither affected the pronounced mean PPF (348.5 % \pm 22.6 % in control condition, n=12; 399.8 \pm 27.8 % with PGE₂, n=12; $p=0.168$; Fig. 1B) nor FF (553.8 % \pm 34.1 % in control condition, n=12; 613.2 \pm 75.9 % with PGE₂, n=12; $p=0.0963$; Fig. 1C). Last, we found that post-tetanic potentiation (PTP), a robust increase in Mf-EPSC amplitude lasting several minutes, triggered by a single train of 100 stimuli at 100 Hz was not affected by PGE₂ (345.8 % \pm 47.62 % in control condition, n=7; 321.5 \pm 54.72 % with PGE₂, n=6; $p=0.742$; Fig. 1D). These data show that exogenous application of PGE₂ neither affected basal synaptic transmission nor different forms of presynaptic short-term plasticity at Mf-CA3 synapses in young (P21) mice.

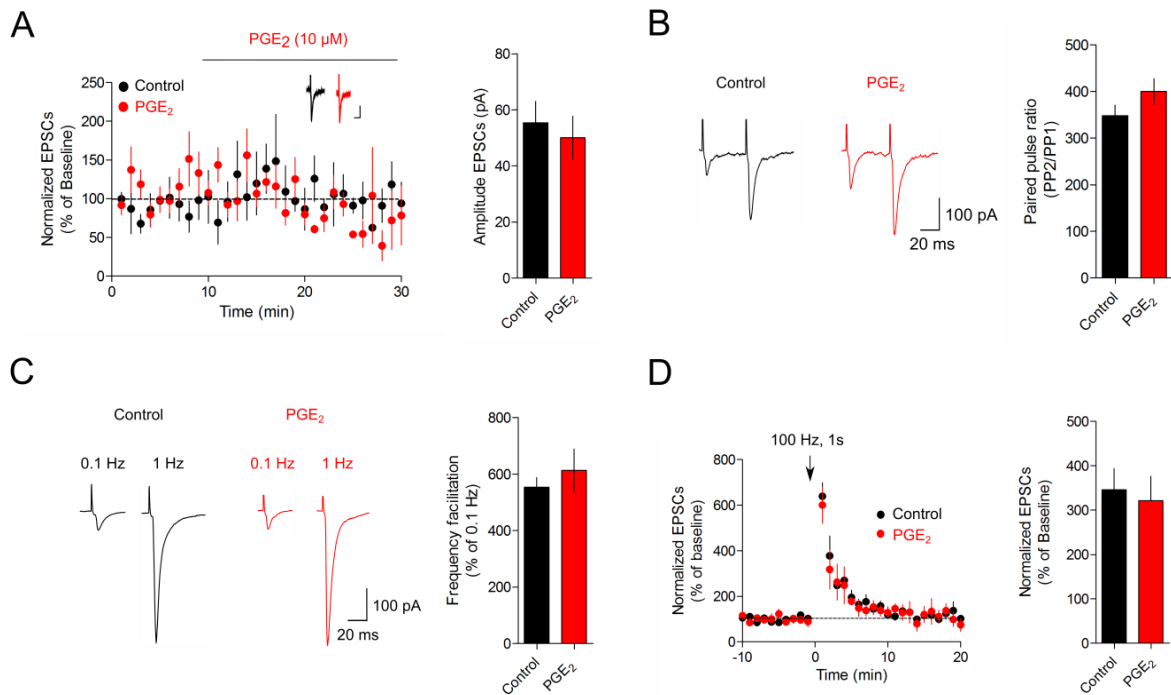


Figure 1: PGE₂ has no effect on basal transmission and short term plasticity.

A. Representative time course of EPSCs recorded in CA3 pyramidal neurons in response to low frequency (0.1 Hz) stimulation of mossy fiber in control conditions (black circles) and after acute application of PGE₂ (10 μM; red circles). EPSCs amplitude was normalized as percentage of average baseline EPSCs amplitude. Each dot corresponds to average of 6 consecutive EPSCs recorded. PGE₂ (10 μM) was added after 10 minutes of baseline and EPSCs were recorded for 20 more minutes. Traces represent an average of EPSCs recorded between 20 and 30 minutes. Scale bar is 20 ms for horizontal line and 20 pA for vertical line. Bar graph represent average amplitude of EPSCs recorded between 20 and 30 minutes (control: $n = 5$; PGE₂: $n = 7$; ns). **B.** Average of 30 traces (left) illustrating paired-pulse facilitation (PPF) at 40ms of Mf-EPSCs in control condition or in presence of PGE₂ (10 μM). Bar graph represent average paired pulse ratio at 40 ms interstimulus interval (control: $n = 12$; PGE₂: $n = 12$; ns). **C.** Average of 50 traces (left) illustrating frequency facilitation (FF) of Mf-EPSCs when increasing the stimulation frequency from 0.1 Hz to 1 Hz in control condition or in presence of PGE₂ (10 μM). Bar graph of mean FF from 0.1 Hz to 1 Hz (control: $n = 12$; PGE₂: $n = 12$; ns). **D.** Representative time course of post tetanic potentiation induced by stimulation at 100 Hz during 1s. Bar graph represents average of normalized EPSCs during the 5 first minutes following the tetanic stimulation (control: $n = 8$; PGE₂: $n = 7$; ns).

PGE₂ impairs presynaptic long term potentiation at Mf-CA3 synapses

We then investigated whether PGE₂ affected long-term potentiation of Mf-EPSCs (Mf-LTP), a presynaptic form of plasticity which is independent of NMDA receptors (Nicoll and Schmitz, 2005). In control condition, three trains of 100 stimuli at 100 Hz (High Frequency Stimulus: HFS) triggered presynaptic Mf-LTP ($137.4 \% \pm 18.2 \%$, $n=10$) as measured by the mean amplitude of Mf-EPSCs recorded 30-40 minutes after HFS (Figs. 2A, 2B). Bath application of PGE₂ (10 μM) 10 minutes before HFS fully prevented Mf-LTP ($82.8 \% \pm 6.7 \%$, $n=11$ $p=0.0086$; Figs. 2A, 2B). In contrast, when applied after the induction of Mf-LTP, PGE₂ had no effect (data not shown). These results indicate that PGE₂ impairs the induction of Mf-LTP, but not its maintenance.

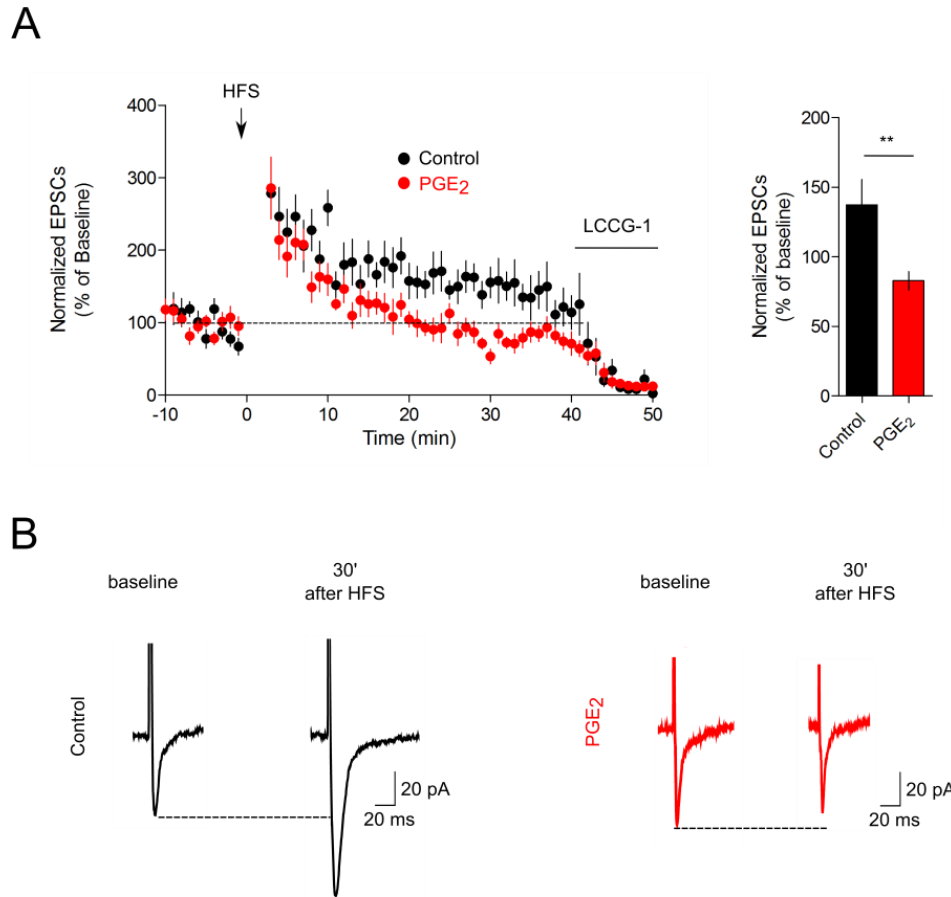


Figure 2: PGE₂ impairs presynaptic mossy fiber LTP

A. Average time course of the effect of PGE₂ (10 μ M) on mossy fiber presynaptic LTP. Mf-LTP was induced by 3 bursts of 100 stimuli at 100 Hz with a 10s interburst interval. The complete inhibition of EPSCs by group II mGluR agonist LCCG-1 (10 μ M) confirmed that they were Mf-EPSCs. Bar graph represents average of normalized EPSCs between 30 and 40 minutes after the HFS protocol (control: $n = 10$; PGE₂: $n = 11$; $**p < 0.01$). **B.** Traces represent averages of 60 EPSCs recorded before the protocol (baseline) and between 30 and 40 minutes after HFS protocol, illustrating the effect of PGE₂ on presynaptic Mf-LTP.

PGE₂ impacts Mf-LTP through the EP3 receptor

Four subtypes of receptors for PGE₂ are expressed in the hippocampus, EP1, EP2, EP3 and EP4 receptors (Zhu et al., 2005), and therefore we investigated which subtype was involved in the impairment of Mf-LTP. Sulprostone (10 μ M), a potent EP3 receptor agonist (Coleman, 1987) mimicked PGE₂ effect, that is, fully prevented Mf-LTP (control: $137.4 \pm 18.1 \%$, $n=10$; PGE₂: $82.8 \pm 6.7 \%$, $n=11$ $p=0.0086$; sulprostone: $85.7 \pm 11.4 \%$, $n=7$ $p=0.0464$; Fig. 3A). In contrast, ONO-AE1-259-01 (1 μ M), a specific EP2 receptor agonist (Mori et al., 2009) had no effect on Mf-LTP (142 ± 25.7 , $n=3$; $p=0.903$; Fig. 3A).

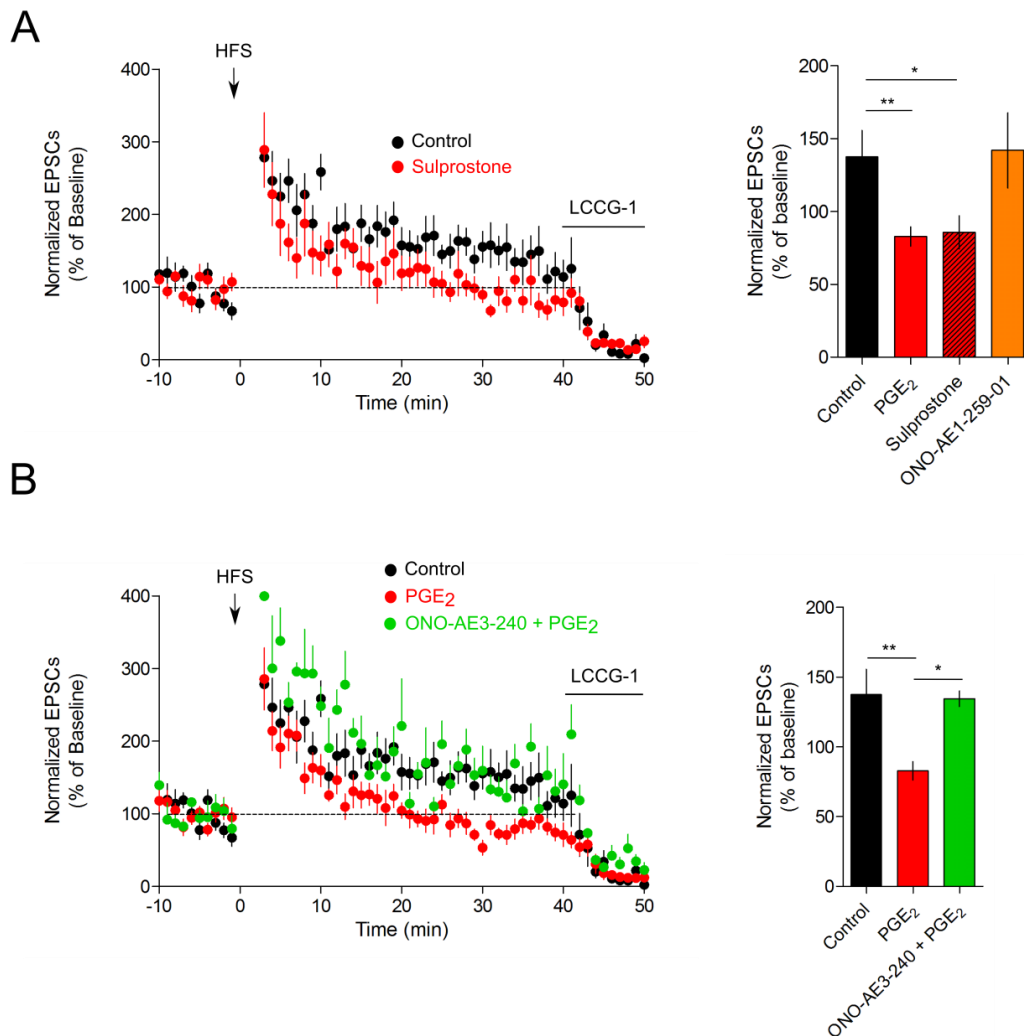


Figure 3: PGE₂ impairment of Mf-LTP is mediated by specific activation of EP3 receptor

A. Summary plot of the effect of sulprostone (10 μ M), a specific EP3 receptor agonist, on Mf-LTP. Bar graph illustrates the effect of sulprostone and of ONO-AE1-259-01 (1 μ M), a specific EP2 receptor agonist, on Mf-LTP (PGE₂: $n = X$, ** $p < 0.01$; sulprostone: $n = 7$, * $p < 0.05$; ONO-AE1-259-01: $n = 3$, ns). **B.** Summary plot of Mf-LTP in presence of EP3 receptor antagonist (ONO-AE3-240; 1 μ M) prior to PGE₂ application. Bar graph illustrates the lack of effect of PGE₂ on Mf-LTP in the presence of specific EP3 receptor antagonist (PGE₂: $n = X$, ** $p < 0.01$; ONO-AE3-240 + PGE₂: $n = 5$; * $p < 0.05$). As shown in A and B, the complete inhibition of EPSCs by group II mGluR agonist LCCG-1 (10 μ M) confirmed that they were Mf-EPSCs.

EP3 receptor activation decreases forskolin-induced potentiation of Mf-EPSCs

EP3 receptor has been described to be coupled to G proteins through a Gi/o subunit (Hatae et al., 2002; Downey et al., 2011; Vasilache et al., 2007) which negatively regulates adenylyl cyclase (AC) activity. Presynaptic cAMP is crucial to the regulation of presynaptic mechanisms at Mf-CA3 synapses; presynaptic receptors coupled to Gs subunit, like 5-HT₄ (Kobayashi et al., 2008) or D1 (Kobayashi et al., 2012) have been shown to potentiate Mf-CA3 synaptix transmission. To test the hypothesis of a negative modulation of AC activity induced by PGE₂ through the activation of EP3 receptor, we tested the effect of sulprostone

on a moderate increase of AC activity by forskolin (2.5 μ M). As expected, forskolin progressively increased Mf-EPSC amplitude up to about 200 % (198.5 % \pm 18.5 %, n=9; Figs. 4A, 4B). Sulprostone (10 μ M) partially reduced the potentiation of Mf-EPSCs induced By forskolin (128.5 % \pm 12.8 %, n=6, p=0.0156; Figs. 4A, 4B). These results confirm that PGE₂ via EP3 receptor modulated AC activity which controls basal synaptic transmission.

EP3 receptor messenger RNA is expressed in the DG granule cell layer.

PGE₂ reduced the potentiation of the basal synaptic transmission triggered by forskolin and impaired presynaptic Mf-LTP. Both effects suggested a presynaptic locus of action for PGE₂. Unfortunately there is as yet no suitable antibody to check for the localization of the EP3

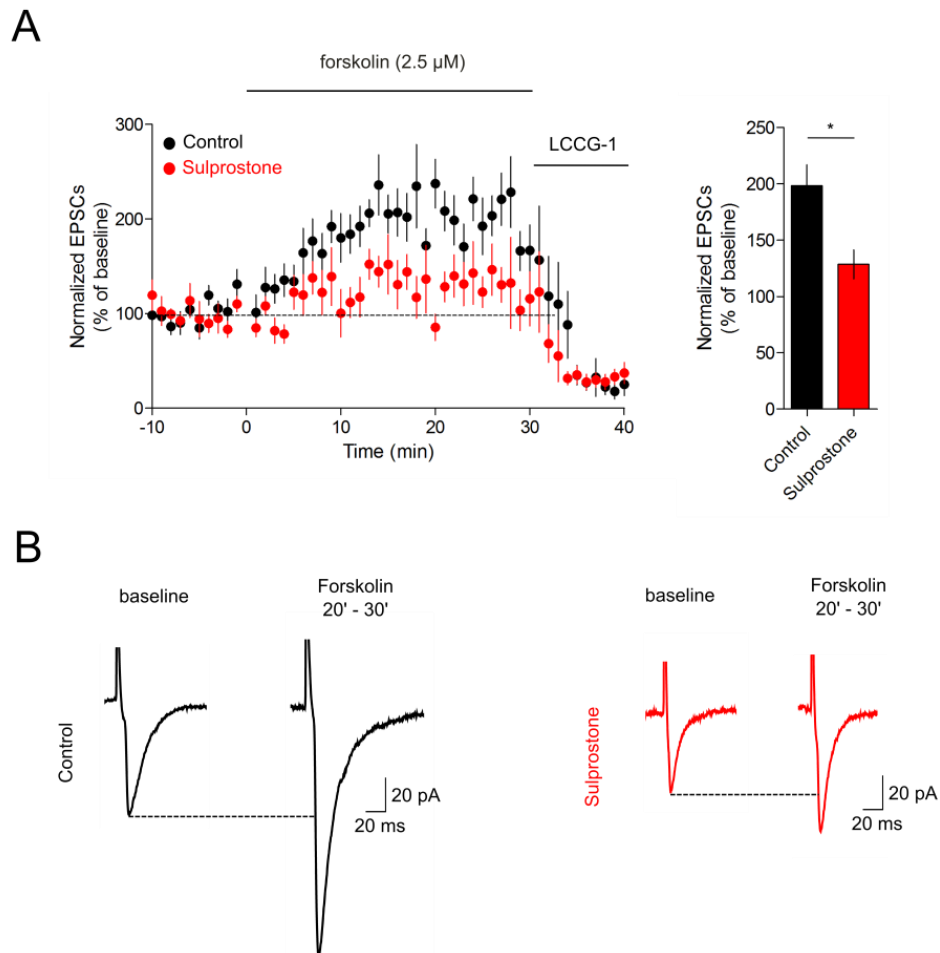


Figure 4: EP3 receptor specific agonist sulprostone decreases forskolin-induced potentiation of Mf-EPSCs

A. Time course of Mf-EPSCs potentiation induced by bath application of forskolin (2.5 μ M) in control condition and in presence of sulprostone (10 μ M). Mf-EPSCs were averaged every minute and normalized to the mean amplitude of the 10 minutes preceding bath application of forskolin. The complete inhibition of EPSCs by group II mGluR agonist LCCG-1 (10 μ M) confirmed that they were Mf-EPSCs. Bar graph illustrates the effect of sulprostone on forskolin-induced potentiation of Mf-EPSCs (control: n = 9; sulprostone: n = 6; *p<0.05). **B.** Traces represent an average of 60 EPSCs recorded between 20 and 30 minutes after forskolin application, illustrating the effect of sulprostone on forskolin-induced potentiation of Mf-LTP.

receptor in brain sections. Similar to what was recently reported by Shi et al (2012), commercially available antibodies for EP3 receptors lead to a strong background staining in brain sections in both EP3^{+/+} and EP3^{-/-} mice (data not shown) which precluded any relevant conclusion. We thus investigated the level of expression of messenger RNA (mRNA) coding for EP3 receptors using laser capture microdissection (LCM) of hippocampal neurons from CA3 and from the granule cell layer of the DG (Vincent et al., 2002) in brain slices (Figure 5A) followed by quantitative real-time reverse transcriptase - quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). Slices were stained with cresyl violet in order to better visualize CA3 and DG regions (Fig. 5A). Samples used to detect the expression of EP3 mRNA levels were obtained from P21, 6 and 12 months old mice. Gene expression level was normalized to succinate dehydrogenase subunit A (SDHA) housekeeping gene and relative mRNA expression was presented relative to CA3 region from P21 mice. EP3 mRNA was barely detectable in CA3 whereas it was clearly expressed in the DG (P21: 2.1 fold \pm 0.3, n=3; p=0.0408; 6 months: 2.3 fold \pm 0.06, n=3; p=0.0185; 12 months: 2.9 fold \pm 0.2, n=3; p=0.0017; Fig. 5B). The expression of EP3 mRNA by DG granule cells neither necessarily means the expression of a functional receptor itself nor does it specifies its localization. However, in light of the electrophysiological effects of PGE₂, the most likely cellular localization for the EP3 receptor are Mfs originating from DG granule cells.

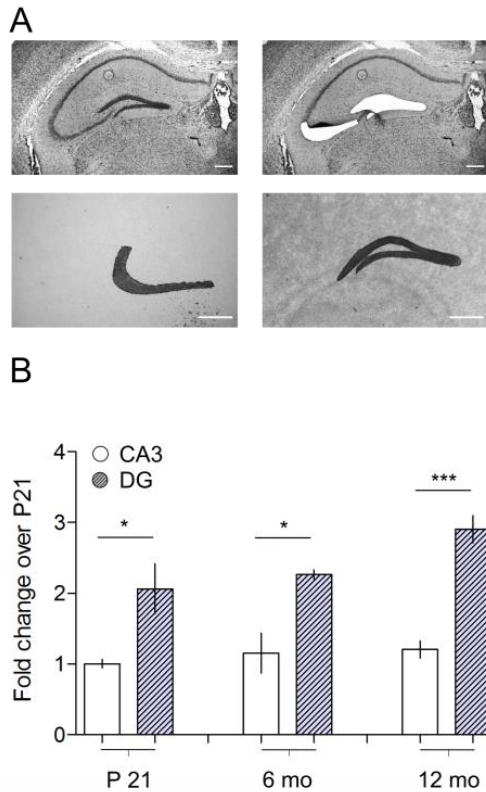


Figure 5: EP3 receptor expression in dentate gyrus and CA3 pyramidal layer

A. Laser capture microdissections (LCM) of dentate gyrus and CA3 neurons. Hippocampi were stained with cresyl violet. Left upper panel: intact hippocampus before LCM. Right upper panel: hippocampus after LCM. Left lower panel: LCM captured CA3 neuronal layer. Right lower panel: LCM captured dentate gyrus. Bar = 300 μ m **B.** Quantitative real time polymerase chain reaction of hippocampal EP3 receptor mRNA derived from wild type mice at P21, 6- and 12-months in dentate gyrus and CA3 pyramidal layer. Bar graph illustrates the increase of expression in DG compare to CA3 pyramidal layer at different age. (n=3 per group; * $p<0.05$; *** $p<0.001$)

Neuroinflammatory status of wild type mice versus APP/PS1 mice

PGE₂ is a key neuroinflammatory molecule linked to AD in epidemiological studies (McGeer and McGeer, 2007) and in transgenic mouse models of AD (Liang et al., 2005; Kotilinek et al., 2008; Shi et al., 2012). We thus hypothesized that PGE₂ may affect the plasticity of Mf-CA3 synapses during the course of the neuroinflammatory reaction in mouse models of AD. We first quantified PGE₂ within the hippocampus during aging both in WT and APP/PS1 mice. PGE₂. No significant difference in PGE₂ levels was observed between WT and APP/PS1 mice (Fig. 6) at ages up to 9 months (6 months: WT: 10.0 ± 1.4 pg/mg, n=8; APP/PS1: 10.1 ± 0.84 pg/mg, n=9; $p=0.9573$; 9 months: WT: 9.54 ± 0.98 pg/mg, n=14; APP/PS1: 10.71 ± 1.51 pg/mg, n=12; $p=0.5113$). PGE₂ levels were significantly increased in APP/PS1 mice at 12 and 15 months of age (12 months: WT: 10.91 ± 0.9 pg/mg, n=18; APP/PS1: 14.67 ± 1.36 pg/mg, n=17; $p=0.0265$; 15 months: WT: 10.87 ± 2.38 pg/mg, n=6; APP/PS1: 17.07 ± 1.42 pg/mg, n=13; $p=0.0376$; Fig. 6). Interestingly, the expression of hippocampal EP3 mRNA was reported to increase starting at 12 months of age in the same APP/PS1 mouse model (Shi et al, 2012)

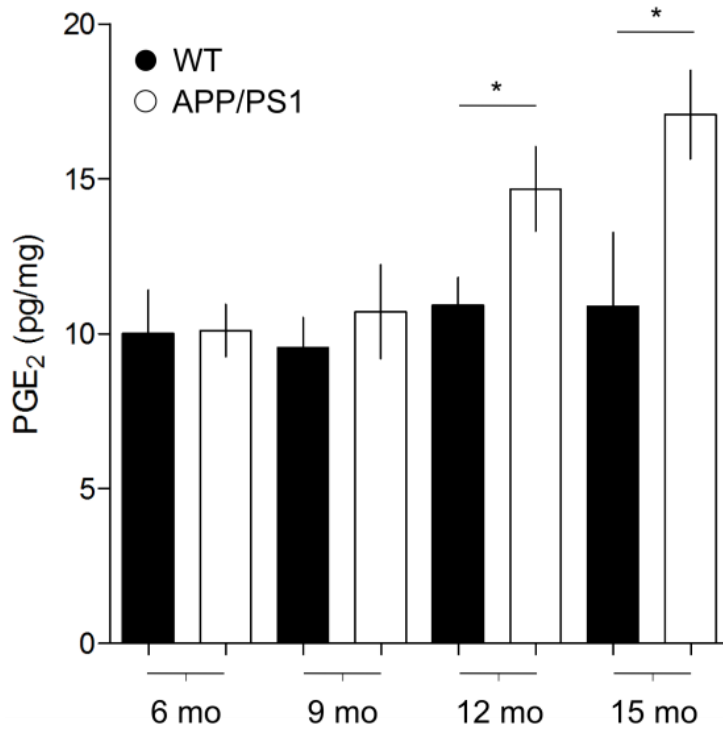


Figure 6: Hippocampal PGE₂ levels in WT versus APP/PS1 mice

Bar graphs represent levels of PGE₂ in whole hippocampus in WT and APP/PS1 at different ages. (6 months: WT, n=8, APP/PS1, n=9, ns; 9 months: WT, n=14, APP/PS1, n=12, ns; 12 months: WT, n=18, APP/PS1, n=17; 15 months: WT, n=6, APP/PS1, n=13). *p<0.05 Kruskal-Wallis test.

We then characterized the inflammatory status of the hippocampus in WT and APP/PS1 mice at 12 months that is when the level of PGE₂ in the hippocampus is significantly different between the genotypes. Neuroinflammation is accompanied with activation of microglia, the innate immune cell of the brain, and of astrocytes, a process leading to profound morphological changes (Haynes et al., 2006). The status of activation of microglia and astrocytes was studied in the *hilus* and in the *stratum lucidum*, i.e., the CA3 region where mossy fibers are synapsing onto thorny excrescences. We used ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba-1) to investigate microglial activation.

In WT mice, astrocytes appeared uniformly distributed throughout the hippocampus (Fig. 7A). They displayed thin cell bodies with elongated processes both in the *stratum lucidum* (Fig. 7B, top) and in the *hilus* (Fig. 7B, bottom). In APP/PS1 mice, astrocytes were abundant in the *hilus*, the *stratum radiatum* and the *stratum moleculare* but scarce in the *stratum lucidum* (Fig. 7C). In the *hilus*, the increased number of astrocytes with respect to WT was accompanied with an enlargement of cell bodies with less ramified processes (Fig. 7D bottom), a typical morphology of activated astrocytes. In contrast, the morphology of astrocytes in the *stratum lucidum* looked very similar to that in WT mice. Microglia appeared uniformly distributed throughout the hippocampus in WT mice, both at 9 and 12 months of

age, and was of the ramified type, that is in a quiescent state; microglial cells displayed a small cell body and many thin processes (Figs. 8A bottom and 8C bottom). In contrast in APP/PS1, microglial cells were clearly segregated in the vicinity of amyloid plaques in the *stratum moleculare* (Figs. 8B and 8D). Microglial cells displayed amoeboid morphology around plaques (red signal), i.e enlarged cell body and few elongated processes (Figs. 8B bottom right and 8D bottom right). Activated microglial cells were more numerous in the hippocampus of APP/PS1 mice at 12 months than at 9 months and were mainly restricted to *stratum moleculare*. Few activated microglial cells were found in the *hilus*, the *stratum radiatum* and the *stratum lucidum* (Figs. 8B and 8D).

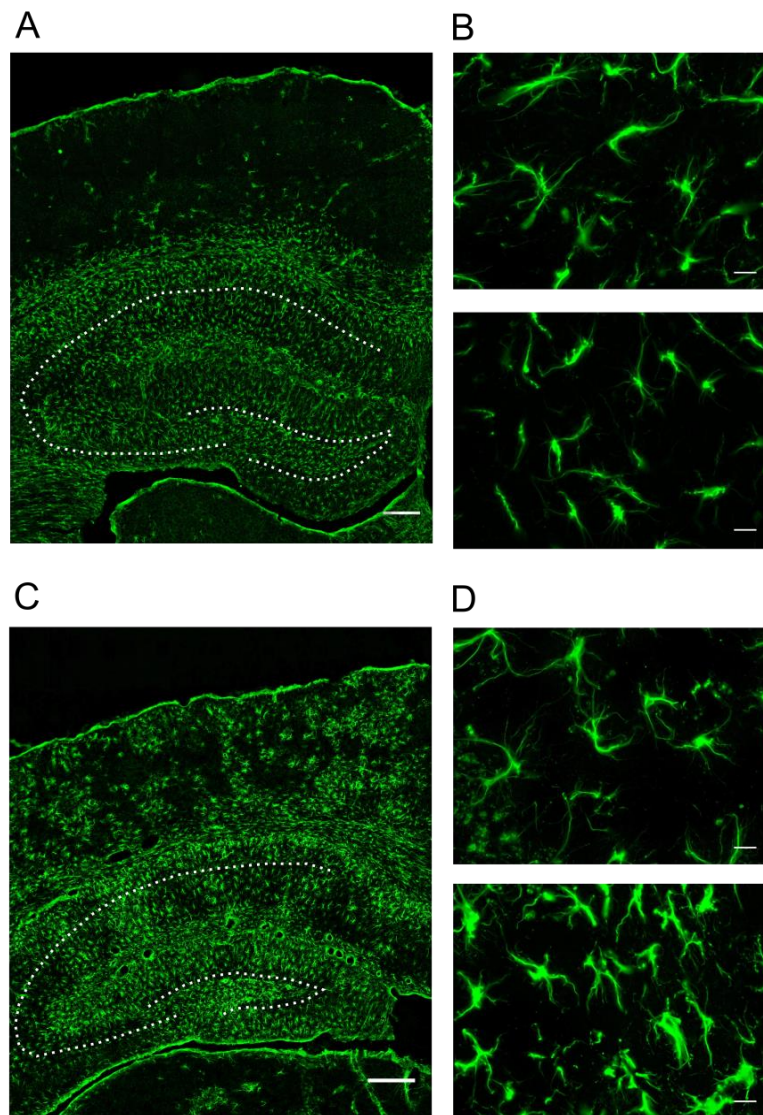


Figure 7: Neuroinflammatory status in WT versus APP/PS1 mice

Representative micrographs of astrocytes in the hippocampus. **A.** Hippocampus of 12 months old wild type mouse. Astrocytes are stained with anti-GFAP antibody. Bar scale = 200 μ m. **B.** Magnification of hippocampal area, stratum lucidum (top) and hilus (bottom). Bar scale = 10 μ m. **C.** Hippocampus of 12 months old APP/PS1 mouse. Bar scale = 200 μ m. **D.** Magnification of hippocampal area, stratum lucidum (top) and hilus (bottom). Bar scale = 10 μ m. Dotted line in A and C delineate the dentate gyrus and CA fields

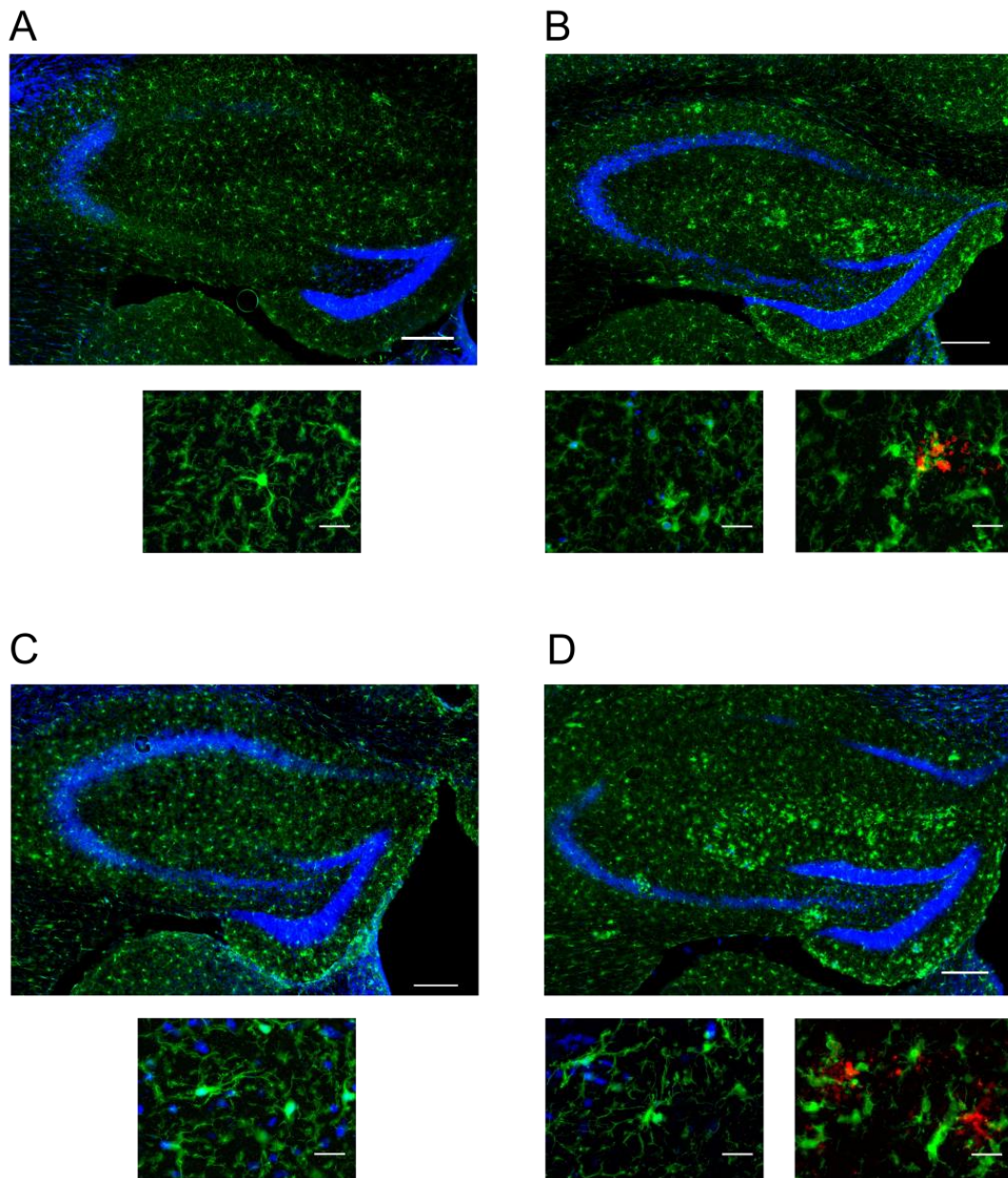


Figure 8: Neuroinflammatory status in WT vs APP/PS1 mice

Representative micrographs of microglial cells in the hippocampus. **A.** Hippocampus of 9 months old wild type mouse. Microglial cells are stained with anti-IBA1 antibody (green signal) and nuclei are stained with DAPI (blue signal). Bar scale = 200 μ m. Bottom image is a focus on stratum lucidum. Bar scale = 10 μ m. **B.** Hippocampus of 9 months old APP/PS1 mouse. Amyloid plaques are stained with anti-A β ₁₋₁₆ antibody (red signal). Bar scale = 200 μ m. Bottoms images are focus on stratum lucidum (left) and stratum moleculare (bottom right). Bar scale = 10 μ m. Note the presence of few diffuse amyloid plaques (red signal) in stratum moleculare surrounded by enlarged microglial cells. No amyloid plaques were observed in stratum lucidum. **C.** Hippocampus of 12 months old wild type mouse. Bar scale = 200 μ m. Bottom image is a focus on stratum lucidum. Bar scale = 10 μ m. **D.** Hippocampus of 12 months old APP/PS1 mouse. Bar scale = 200 μ m. Bottom images are focus on stratum lucidum (left) and stratum moleculare (bottom right). Note the presence of enlarged microglial cells in the vicinity of diffuse amyloid plaques (red signal) in stratum moleculare. Bar scale = 10 μ m.

Presynaptic Mf-LTP is impaired in 12 month-old APP/PS1 mice

Since PGE₂ alters synaptic plasticity at Mf-CA3 synapses in WT mice, we investigated what could be the impact of increased levels of PGE₂ caused by neuroinflammation in APP/PS1 mice. Because of the difficulty in obtaining patch-clamp recordings from 9 and 12-months old mice, we recorded field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) in the remaining of the study. We did not observe any differences in input-output relationships for fiber volley amplitude versus fEPSP slope at 9 months and 12 months of age (12 months: WT: 0.21 mV/ms \pm 0.08 mV/ms, n=8; APP/PS1: 0.28 mV/ms \pm 0.12 mV/ms, n=6; p=0.624; Fig. 9A) between WT and APP/PS1 mice. Similarly, at both these ages PPF and FF were not affected at Mf-CA3 synapses of APP/PS1 mice (FF, 12 months: WT: 532.4 % \pm 88.36 %, n=8; APP/PS1: 417.6 \pm 122.9 %, n=6; p=0.4316; Fig. 9B). (PPF, 12 months: WT: 383.2 % \pm 74.86 %, n=8; APP/PS1: 281.6 \pm 37.36 %, n=6; p=0.2959; Fig. 9C). Finally we investigated the impact of aging and genotype on Mf-LTP using a high frequency stimulation (HFS) protocol consisting of 3 trains of 100 stimuli at 100 Hz. No difference in the extent of Mf-LTP was observed between APP/PS1 mice and their WT littermates (WT: 152.1 % \pm 13.6 %, n=5; APP/PS1: 160 % \pm 11.4 %, n=5; p=0.6691; Fig. 10A). In contrast, presynaptic LTP was reduced from about 175% in WT mice to 132% in APP/PS1 mice at 12 months of age (WT: 176.9 % \pm 14.05 %, n=11; APP/PS1: 132.3 % \pm 5.99 %, n=10; p=0.038; Fig. 10B).

Impairment of presynaptic LTP in APP-PS1 mice involves EP3 receptor

We then explored the possible link between reduced Mf-LTP and increased levels of PGE₂ in 12 months old APP/PS1 mice. PGE₂ (10 μ M) completely abolished Mf-LTP in 12-months old WT mice (control: 176.9 % \pm 14.05 %, n=11; PGE₂: 113 % \pm 5.78 %, n=6; p=0.0056; Fig. 11A), an effect which was faithfully mimicked by sulprostone (1 μ M) (control: 176.9 % \pm 14.05 %, n=11; sulprostone: 102.9 % \pm 19.06 %, n=3; p=0.0257; Fig. 11A). We then hypothesize that the building up of ambient PGE₂ produced within the course of the pathology in APP/PS1 mice was responsible for, or at least involved in, the impairment of LTP via the EP3 receptor.

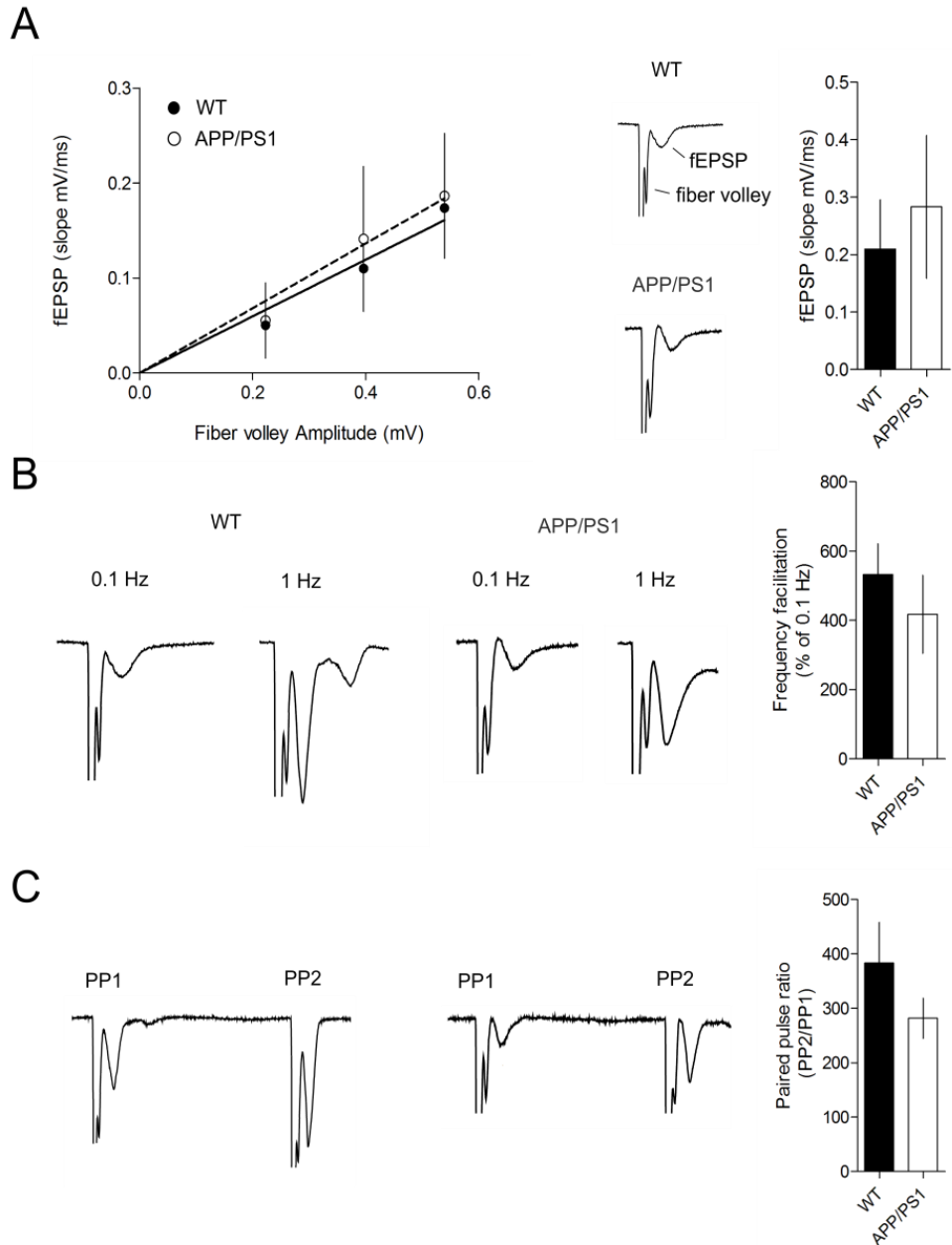


Figure 9: Basal synaptic transmission and short term plasticity are not affected in APP/PS1 up to 12 months old

A. Input-output relationship between the amplitude of fiber volley and the slope of fEPSP for gradually increasing stimulation intensities in wild type animals (black circle) and APP/PS1 animals (white circles) at 12 months. Representative traces (middle) represent average of 60 mossy fiber responses with presynaptic component (fiber volley) and postsynaptic component (fEPSP). Bar graph illustrates the average of fEPSPs slopes (WT: $n = 7$; APP/PS1: $n = 6$, ns). **B.** Representative traces of 50 field recordings illustrating FF of Mf-EPSPs when increasing the stimulation frequency from 0.1 Hz to 1 Hz in WT mice and APP/PS1 mice at 9 months. Bar graph represents the mean FF from 0.1 Hz to 1 Hz (WT: $n = 7$; APP/PS1: $n = 6$, ns). **C.** Representative traces of 50 field recordings illustrating paired-pulse facilitation (PPF) at 40ms in WT mice and APP/PS1 mice at 9 months. Bar graph represent the average of fEPSPs slopes (WT: $n = 7$; APP/PS1: $n = 6$, ns).

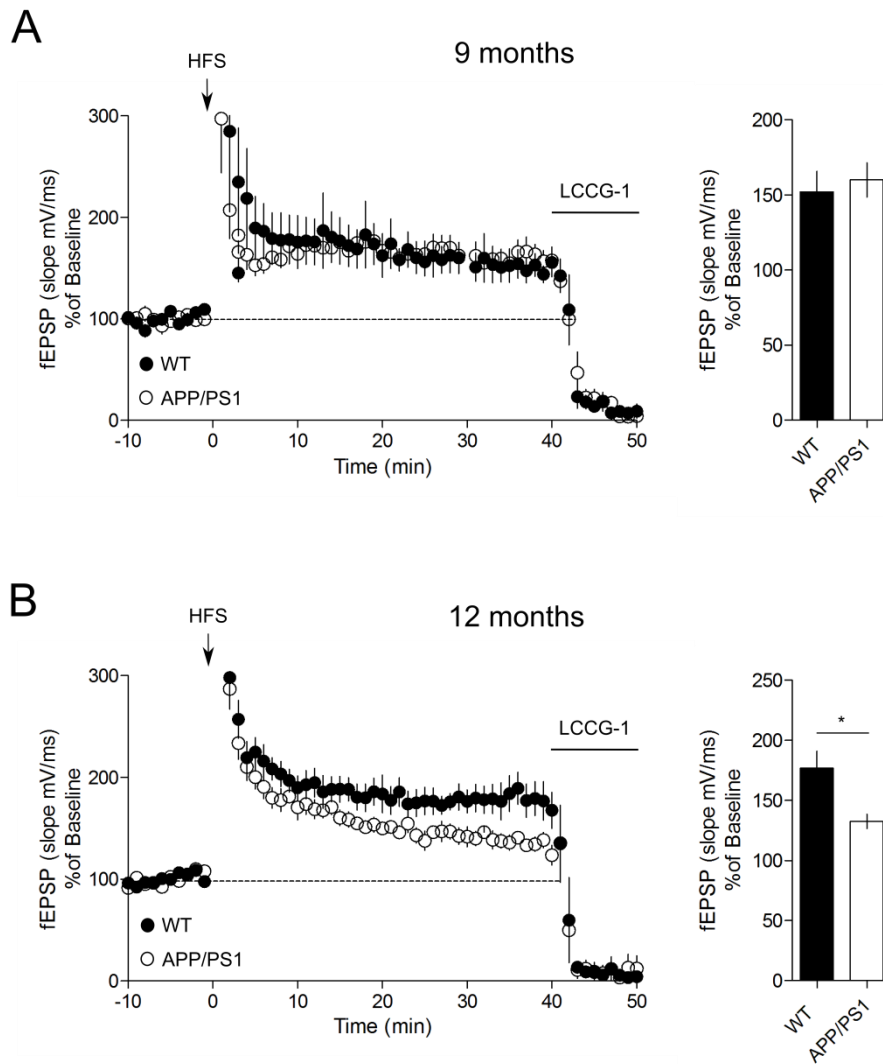


Figure 10: Presynaptic Mf-LTP is impaired in APP/PS1 at 12 months old

A. Average time course of mossy fiber presynaptic LTP in WT and APP/PS1 mice at 9 months old. Mf-LTP was induced by 3 bursts of 100 stimuli at 100 Hz with a 10s interburst interval. Bar graph represents average of normalized fEPSPs slopes between 30 and 40 minutes after the HFS protocol (WT: $n = 5$; APP/PS1: $n = 5$, ns). Traces represent an average of 60 recordings before LTP protocol (baseline) and between 30 and 40 minutes after HFS protocol in WT and APP/PS1. **B.** Average time course of mossy fiber presynaptic LTP in WT and APP/PS1 mice at 12 months old. LTP is reduced by about half. Bar graph illustrates the impairment of presynaptic LTP in APP/PS1 compare to WT mice (WT: $n = 11$; APP/PS1: $n = 11$; $*p < 0.05$). As shown in A and B, the complete inhibition of EPSCs by group II mGluR agonist LCCG-1 (10 μ M) confirmed that they were Mf-EPSCs.

We thus tested the effects of ONO-AE3-240 on Mf-LTP in APP/PS1 mice. ONO-AE3-240 (1 μ M) added 30 minutes prior to the HFS burst completely abrogated the impairment of Mf-LTP in APP/PS1 mice (APP/PS1: $132.3\% \pm 5.98\%$, $n=10$; $174.3\% \pm 13.6\%$; APP/PS1 + ONO-AE3-240, $n=9$; $p=0.0092$; Fig. 11B). Taken together, these results provide strong evidence that PGE₂ acting via an EP3 receptor was responsible for the impairment of Mf-LTP in APP/PS1 mice, at a stage where neuroinflammation leads to increased levels of PGE₂.

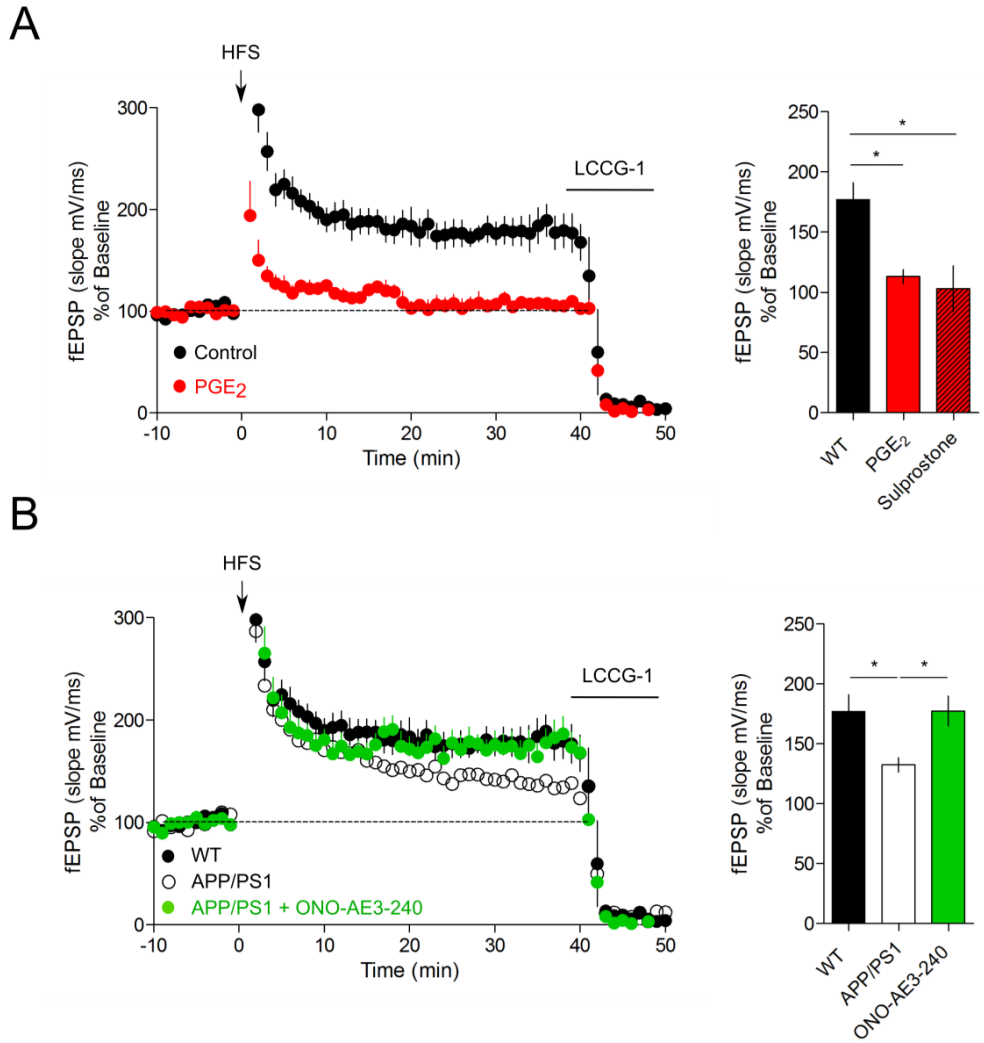


Figure 11: Inhibition of EP3 receptor rescues completely the impairment of presynaptic Mf-LTP in APP/PS1 mice

A. Average time course of the effect of PGE₂ (10 μ M) and sulprostone (10 μ M) on presynaptic Mf-LTP in WT 12 months old mice. Bar graph represents average of normalized slopes from fEPSPs between 30 and 40 minutes after the HFS protocol (control: $n = 11$; PGE₂: $n = 6$; sulprostone: $n=3$; $*p<0.05$). Traces represent averages of 60 field recordings before the protocol (baseline) and between 30 and 40 minutes after HFS protocol, illustrating the effect of PGE₂ on presynaptic Mf-LTP. **B.** Effect of ONO-AE3-240 (1 μ M) on Mf-LTP in APP/PS1 mice at 12 months old. Average time course bar graph and traces illustrate the rescue of Mf-LTP in presence of ONO-AE3-240 in APP/PS1 mice (WT: $n = 11$; APP/PS1: $n = 11$; APP/PS1 + ONO-AE3-240: $n = 11$; $*p<0.05$). As shown in A and B, the complete inhibition of EPSCs by group II mGluR agonist LCCG-1 (10 μ M) confirmed that they were Mf-EPSCs.

DISCUSSION

Our findings demonstrate that PGE₂ acting through the EP3 receptor subtype impairs synaptic plasticity at Mf-CA3 synapses. We further provide evidence that in the APP/PS1 mouse model of AD, the PGE₂ - EP3 receptor signaling pathway is responsible for impairment of the presynaptic LTP at Mf-CA3 synapses by showing that the blockade of EP3 receptors fully reverses the impairment of LTP at a physiopathological stage (12 months) characterized by both marked neuroinflammation and chronically elevated levels of the neuroinflammatory molecule PGE₂. These results highlight EP3 receptors as a potential therapeutic target to alleviate synaptic dysfunction, hence cognitive deficits in the course of AD.

PGE₂ inhibits Mf-LTP by acting through EP3 receptors likely localized presynaptically. PGE₂ and COX-2 signaling pathway modulates hippocampal synaptic transmission and/or plasticity (Sang et al., 2005; Chen and Bazan, 2005; Yang et al., 2009). Depending on its level, PGE₂ can either be beneficial or detrimental to hippocampal plasticity. Endogenous basal levels of PGE₂ regulate membrane excitability and synaptic transmission in hippocampal CA1 (Chen et al., 2002; Chen and Bazan, 2005) and are necessary for memory acquisition (Rall et al., 2003), memory consolidation (Teather et al., 2002) and spatial memory retention (Shaw et al., 2003; Sharifzadeh et al., 2006; Cowley et al., 2008). In contrast, transgenic mice overexpressing Cox-2 in hippocampal neurons display cognitive deficits (Andreasson, 2011). Because PGE₂ can bind to four subtypes of receptors (EP1-4) which are all expressed in the hippocampus, its effects may vary accordingly. Here we show that activation of EP3 receptors inhibits a presynaptic form of LTP at Mf-CA3 synapses.

EP3 receptors couple with the G_i-adenylyl cyclase - cAMP pathway leading to inhibition of cAMP generation (Irie et al., 1993, 1994; Breyer et al., 2001). Two isoforms of adenylyl cyclase (AC) are expressed by hippocampal neurons; AC1 and AC8 (Xia et al., 1991; Wang et al., 2003). AC8 activity is exclusively dependent on intracellular Ca²⁺ (Nielsen et al., 1996) whereas AC1, which is highly expressed in dentate granule cells (Xia et al., 1991), is both regulated by G proteins and intracellular Ca²⁺ (Willoughby and Cooper, 2007). Therefore, it seems that only AC1 may be linked to PGE₂-EP3 signaling pathway. Activation of this pathway does not modulate basal synaptic transmission but our results are consistent with other studies showing that simple deletion of AC1 (Villacres et al., 1998) or double deletion of AC1/AC8 (Wang et al., 2003) do not affect basal properties of Mf-CA3 synapses. However we did observe a decrease of EPSCs amplitude when they were previously enhanced by

forskolin, an activator of adenylyl cyclase. These results show that the sole activation of PGE₂-EP3 signaling pathway is not sufficient to modulate synaptic basal transmission whereas it may interact with pathways linked to adenylyl cyclase, when AC is previously activated. The presynaptic form of LTP at Mf-CA3 synapses depend on an increased activation of AC (Wang et al., 2003; Schmitz and Nicoll, 2005). In keeping with this, we found that PGE₂ impaired presynaptic Mf LTP, an effect mimicked by sulprostone (EP3 agonist) and blocked by ONO-AE3-240 (EP3 antagonist), whereas ONO-AE1-259-01 (EP2 agonist) had no effect. These data provide strong evidence for an effect of PGE₂ mediated by EP3 receptor most likely expressed by mossy fibers and that PGE₂ acts by downregulating AC activity triggered by the HFS bursts.

This represents the first study showing that EP3 receptors also modulate hippocampal synaptic plasticity. We propose that EP3 receptors act at a presynaptic level. Due to the lack of a suitable antibody against EP3 receptors (this study; Shi et al., 2012), we were not able to ascertain its cellular localization. However there is a coherent array of arguments pointing at a presynaptic localization of EP3 receptor at Mf-CA3 synapses. First, PGE₂ specifically modulates the release of neurotransmitter by Mf through a EP3 receptor G_i-adenylyl cyclase - cAMP pathway. Second, PGE₂-EP3 signaling pathway specifically impairs presynaptic Mf-CA3 LTP. Third, DG cells express EP3 mRNA whereas it is barely detectable in CA3 neurons. Fourth, hippocampal expression of presynaptic proteins such as synaptophysin, synapsin 1, SNAP-25 or VAMP-2 is regulated by PGE₂-EP3R signaling pathway in APP/PS1 mice, whereas the expression of proteins belonging to the postsynaptic density (PSD) is not (Shi et al., 2012). These arguments do not rule out a putative glial expression of EP3 receptors (Kitanaka et al., 1996; Slawik, 2004). However, glial process have a restricted access to Mf-CA3 synaptic cleft in physiological conditions (Rollenhagen and Lübke, 2010) and therefore a major role for glial EP3 receptor in the modulation of Mf synaptic plasticity seems unlikely (Haustein et al., 2014).

Elevation of PGE₂ during AD-linked neuroinflammatory processes is responsible for impairment of synaptic plasticity at Mf-CA3 synapses. Most relevant to our study, PGE₂-EP3 signaling seems to be a key component in the progression of the pathology in a mouse model of Alzheimer disease (Shi et al., 2012). The present finding of a PGE₂-EP3 signaling linked to the impairment of the presynaptic Mf-LTP in wild type mice prompted us to investigate if this plasticity was altered in APP/PS1 mice during the course of the disease and if PGE₂-EP3 signaling pathway was involved. So far, most of the studies focussed on synaptic failure in

mice models of AD have not addressed if and how progressive neuroinflammatory processes were linked with synaptic dysfunction. Here we show that presynaptic Mf-LTP was impaired in APP/PS1 mice starting at 12 months of age, whereas presynaptic short-term plasticity (frequency facilitation and paired pulse facilitation) was not altered. This time course parallels the significant increase in hippocampal levels of PGE₂ which we observed in APP/PS1 mice between 9 and 12 months of age. In addition, an EP3 receptor antagonist fully recovered from impaired Mf-LTP in 12-months old APP/PS1 mice. Our data clearly support a key role of PGE₂-EP3 signaling in the development of synaptic dysfunction in neuroinflammatory processes linked to AD. Interestingly, in APP/PS1 mice, a time point of 8 months was proposed for the onset of inflammatory gene expression of IL-1 β , iNOS and TNF α which is driven by an increased expression of hippocampal EP3 mRNA (Shi et al, 2012). The time course of impairment of presynaptic Mf-LTP correlates with the appearance of sparse amyloid plaques in the *hilus* and the *stratum lucidum*, associated with enlarged astrocytes and microglia at 12 months of age.

Pathophysiological relevance of PGE₂-EP3 signaling at the Mf-CA3 synapse in the context of AD. Mf-CA3 synapses are endowed with exclusive functional properties such as prominent short-term plasticity and a presynaptic form of LTP independent of NMDA receptors (Pinheiro and Mulle, 2008). Potential alteration of Mf synaptic function in the context of AD has only received limited attention, despite the key role of DG-CA3 circuits in the encoding of new spatial information and complex mnemonic processes (Marchetti and Marie, 2013). Impaired Mf-LTP was previously observed in senescent (24 months) APP/PS1 mice. Our study demonstrates for the first time that presynaptic Mf-LTP is specifically altered through a PGE₂-EP3 signaling pathway in APP/PS1 mice at 12 months of age and most importantly can be entirely rescued by the pharmacological blockade of the EP3 receptor. PGE₂-EP3 signaling appears to be instrumental in neuroinflammation processes (Shi et al., 2012) linked to synaptic alterations. Further work should elucidate engagement of PGE₂-EP3 signaling pathway during neuroinflammatory processes is linked to AD-related cognitive deficits. Interestingly, contextual fear conditioning is altered in APP/PS1 mice (Kilgore et al., 2010) and PGE₂ was described to be necessary and sufficient to induce CFC when injected in the dorsal hippocampus (Hein et al., 2007).

In summary, this work establishes that PGE₂ signaling via the EP3 receptor selectively impairs synaptic plasticity at Mf-CA3 synapses. It confirms and extends previous observations showing that this pathway is implicated in neuroinflammatory processes in the

course of AD (Shi et al., 2012), and identifies a presynaptic form of LTP as a target and a potential explanation for deficits in one-trial memory. Our work leads to the promising idea of a therapeutical targeting of a receptor instead of an upstream global inhibition of the production of PGE₂ which may have deleterious effects.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Sílvia Viana da Silva for constant help and fruitful discussions concerning APPswe/PS1ΔE9 mice, Marlène Maître from the Microdissection Laser platform of the Neurocenter Magendie Inserm U862 Pathophysiology of Addiction group, Bordeaux (funded by the "Fondation pour la Recherche Médicale") for her technical support, Thierry Lesté-Lasserre from the Genotyping platform (Neurocenter Magendie Inserm U862) for his technical support, Noëlle Grosjean for genotyping APPswe/PS1ΔE9 mice, Takayuki Maruyama from ONO Pharmaceuticals Co Ltd, Japan, for his generous gift of selective agonists and antagonists of EP1–4 receptors, Shuh Narumiya, Tomoyuki Furuyashiki and Toshiro Maruyama from Kyoto University, Kyoto, Japan, for the generous gift of EP3^{-/-} mice brains. Vincent Maingret is supported by a studentship from the "Ministère de l'Éducation Nationale, Enseignement Supérieur et de la Recherche " and from the "Fondation pour la Recherche Médicale".

REFERENCES

- Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., and Bradt, B. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 21, 383–421.
- Andreasson, K. (2011). Emerging roles of PGE₂ receptors in models of neurological disease, 91, 104–112.
- Bischofberger, J., Engel, D., Frotscher, M., and Jonas, P. (2006). Timing and efficacy of transmitter release at mossy fiber synapses in the hippocampal network. *Pflügers Archiv : European Journal of Physiology*, 453(3), 361–72.
- Breitner, J. C., Baker, L., and Montine, T. (2011). Extended results of the Alzheimer's disease anti-inflammatory prevention trial. *Alzheimers Dementia*, 7(4), 402–411.
- Breitner, J. C., and Zandi, P. P. (2001). Do nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce the risk of Alzheimer's disease? *The New England Journal of Medicine*, 345(21), 1567–8.

- Breyer, R. M., Bagdassarian, C. K., Myers, S. A., and Breyer, M. D. (2001). Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41, 661–90.
- Burgess, B. L., McIsaac, S. a, Naus, K. E., Chan, J. Y., Tansley, G. H. K., Yang, J., Miao, F., Ross, C. J. D., van Eck, M., Hayden, M. R., van Nostrand, W., St George-Hyslop, P., Westaway, D., and Wellington, C. L. (2006). Elevated plasma triglyceride levels precede amyloid deposition in Alzheimer's disease mouse models with abundant A beta in plasma. *Neurobiology of Disease*, 24(1), 114–27.
- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., and Wittwer, C. T. (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611–22.
- Chapman, P. F., White, G. L., Jones, M. W., Cooper-Blacketer, D., Marshall, V. J., Irizarry, M., Younkin, L., Good, M. A., Bliss, T. V, Hyman, B. T., Younkin, S. G., and Hsiao, K. K. (1999). Impaired synaptic plasticity and learning in aged amyloid precursor protein transgenic mice. *Nature Neuroscience*, 2(3), 271–6.
- Chen, C., and Bazan, N. G. (2005). Endogenous PGE2 regulates membrane excitability and synaptic transmission in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, 93(2), 929–41.
- Chen, C., Magee, J., and Bazan, N. (2002). Cyclooxygenase-2 regulates prostaglandin E2 signaling in hippocampal long-term synaptic plasticity. *Journal of Neurophysiology*, 2851–2857.
- Chishti, M. A., Yang, D. S., Janus, C., Phinney, A. L., Horne, P., Pearson, J., Strome, R., Zuker, N., Loukides, J., French, J., Turner, S., Lozza, G., Grilli, M., Kunicki, S., Morissette, C., Paquette, J., Gervais, F., Bergeron, C., Fraser, P. E., Carlson, G. A., George-Hyslop, P. S., and Westaway, D. (2001). Early-onset amyloid deposition and cognitive deficits in transgenic mice expressing a double mutant form of amyloid precursor protein 695. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(24), 21562–70.
- Cowley, T. R., Fahey, B., and O'Mara, S. M. (2008). COX-2, but not COX-1, activity is necessary for the induction of perforant path long-term potentiation and spatial learning in vivo. *The European Journal of Neuroscience*, 27(11), 2999–3008.
- Downey, J. D., Sanders, C. R., and Breyer, R. M. (2011). Evidence for the presence of a critical disulfide bond in the mouse EP3 γ receptor. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 94(1-2), 53–8.
- Eikelenboom, P., Zhan, S. S., van Gool, W. A., and Allsop, D. (1994). Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 15(12), 447–50.
- Font-Nieves, M., Sans-Fons, M. G., Gorina, R., Bonfill-Teixidor, E., Salas-Pérdomo, A., Márquez-Kisinousky, L., Santalucia, T., and Planas, A. M. (2012). Induction of COX-2 enzyme and down-regulation of COX-1 expression by lipopolysaccharide (LPS) control

- prostaglandin E2 production in astrocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(9), 6454–68.
- Hatae, N., Yamaoka, K., Sugimoto, Y., Negishi, M., and Ichikawa, A. (2002). Augmentation of receptor-mediated adenylyl cyclase activity by Gi-coupled prostaglandin receptor subtype EP3 in a Gbetagamma subunit-independent manner. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 290(1), 162–8.
- Haustein, M. D., Kracun, S., Lu, X.-H., Shih, T., Jackson-Weaver, O., Tong, X., Xu, J., Yang, X. W., O'Dell, T. J., Marvin, J. S., Ellisman, M. H., Bushong, E. A., Looger, L. L., and Khakh, B. S. (2014). Conditions and constraints for astrocyte calcium signaling in the hippocampal mossy fiber pathway. *Neuron*, 82(2), 413–29.
- Hein, A. M., Stutzman, D. L., Bland, S. T., Barrientos, R. M., Watkins, L. R., Rudy, J. W., and Maier, S. F. (2007). Prostaglandins are necessary and sufficient to induce contextual fear learning impairments after interleukin-1 beta injections into the dorsal hippocampus. *Neuroscience*, 150(4), 754–63.
- Heneka, M., and Obanion, M. (2007). Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology*, 184(1-2), 69–91.
- Henze, D. a, Wittner, L., and Buzsáki, G. (2002). Single granule cells reliably discharge targets in the hippocampal CA3 network in vivo. *Nature Neuroscience*, 5(8), 790–5.
- Hoozemans, J. J. M., Rozemuller, J. M., van Haastert, E. S., Veerhuis, R., and Eikelenboom, P. (2008). Cyclooxygenase-1 and -2 in the Different Stages of Alzheimer's Disease Pathology. *Current Pharmaceutical Design*, 14(14), 1419–1427.
- Hoshino, T., Nakaya, T., Homan, T., Tanaka, K., Sugimoto, Y., Araki, W., Narita, M., Narumiya, S., Suzuki, T., and Mizushima, T. (2007). Involvement of prostaglandin E2 in production of amyloid-beta peptides both in vitro and in vivo. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(45), 32676–88.
- in t' Veld, B. A., Ruitenber, A., Hofman, A., Launer, L. J., van Duijn, C. M., Stijnen, T., Breteler, M. M., and Stricker, B. H. (2001). Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 345(21), 1515–21.
- Irie, A., Segi, E., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., and Negishi, M. (1994). Mouse prostaglandin E receptor EP3 subtype mediates calcium signals via Gi in cDNA-transfected Chinese hamster ovary cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 204(1), 303–9.
- Irie, A., Sugimoto, Y., Namba, T., Harazono, A., Honda, A., Watabe, A., Negishi, M., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1993). Third isoform of the prostaglandin-E-receptor EP3 subtype with different C-terminal tail coupling to both stimulation and inhibition of adenylyl cyclase. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 217(1), 313–8.
- Jacobsen, J. S., Wu, C.-C., Redwine, J. M., Comery, T. A., Arias, R., Bowlby, M., Martone, R., Morrison, J. H., Pangalos, M. N., Reinhart, P. H., and Bloom, F. E. (2006). Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103(13), 5161–6.

- Jankowsky, J. L., Fadale, D. J., Anderson, J., Xu, G. M., Gonzales, V., Jenkins, N. a, Copeland, N. G., Lee, M. K., Younkin, L. H., Wagner, S. L., Younkin, S. G., and Borchelt, D. R. (2004). Mutant presenilins specifically elevate the levels of the 42 residue beta-amyloid peptide in vivo: evidence for augmentation of a 42-specific gamma secretase. *Human Molecular Genetics*, 13(2), 159–70.
- Kilgore, M., Miller, C. a, Fass, D. M., Hennig, K. M., Haggarty, S. J., Sweatt, J. D., and Rumbaugh, G. (2010). Inhibitors of class 1 histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(4), 870–80.
- Kitamura, Y., Shimohama, S., Koike, H., Kakimura, J. i, Matsuoka, Y., Nomura, Y., Gebicke-Haerter, P. J., and Taniguchi, T. (1999). Increased expression of cyclooxygenases and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in Alzheimer's disease brains. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 254(3), 582–6.
- Kitanaka, J., Hashimoto, H., Gotoh, M., Kondo, K., Sakata, K., Hirasawa, Y., Sawada, M., Suzumura, A., Marunouchi, T., Matsuda, T., and Baba, A. (1996). Expression pattern of messenger RNAs for prostanoid receptors in glial cell cultures. *Brain Research*, 707(2), 282–7.
- Kobayashi, K., Haneda, E., Higuchi, M., Suhara, T., and Suzuki, H. (2012). Chronic fluoxetine selectively upregulates dopamine D₁-like receptors in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(6), 1500–8.
- Kobayashi, K., Ikeda, Y., Haneda, E., and Suzuki, H. (2008). Chronic fluoxetine bidirectionally modulates potentiating effects of serotonin on the hippocampal mossy fiber synaptic transmission. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(24), 6272–80.
- Kotilinek, L. a, Westerman, M. a, Wang, Q., Panizzon, K., Lim, G. P., Simonyi, A., Lesne, S., Falinska, A., Younkin, L. H., Younkin, S. G., Rowan, M., Cleary, J., Wallis, R. A., Sun, G. Y., Cole, G., Frautschy, S., Anwyl, R., and Ashe, K. H. (2008). Cyclooxygenase-2 inhibition improves amyloid-beta-mediated suppression of memory and synaptic plasticity. *Brain : A Journal of Neurology*, 131(Pt 3), 651–64.
- Lagadeuc, S., Rotureau, L., Hémar, A., Macrez, N., Delcasso, S., Jeantet, Y., and Cho, Y. H. (2012). Early temporal short-term memory deficits in double transgenic APP/PS1 mice. *Neurobiology of Aging*, 33(1), 203.e1–11.
- Lee, S. H., Kim, K.-R., Ryu, S.-Y., Son, S., Hong, H. S., Mook-Jung, I., Lee, S.-H., and Ho, W.-K. (2012). Impaired Short-Term Plasticity in Mossy Fiber Synapses Caused by Mitochondrial Dysfunction of Dentate Granule Cells Is the Earliest Synaptic Deficit in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience*, 32(17), 5953–5963.

- Leoutsakos, J., and Muthen, B. (2012). Effects of NSAID treatments on cognitive decline vary by phase of pre-clinical Alzheimer disease: Findings from the randomized controlled ADAPT trial. ... *Journal of Geriatric ...*, 27(January 2005), 364–374.
- Liang, X., Wang, Q., Hand, T., Wu, L., Breyer, R. M., Montine, T. J., and Andreasson, K. (2005). Deletion of the prostaglandin E2 EP2 receptor reduces oxidative damage and amyloid burden in a model of Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(44), 10180–7.
- Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)*, 25(4), 402–8.
- Marchal, C., and Mulle, C. (2004). Postnatal maturation of mossy fibre excitatory transmission in mouse CA3 pyramidal cells: a potential role for kainate receptors. *The Journal of Physiology*, 561(Pt 1), 27–37.
- McGeer, P. L., and McGeer, E. G. (2007). NSAIDs and Alzheimer disease: epidemiological, animal model and clinical studies. *Neurobiology of Aging*, 28(5), 639–47.
- McGeer, P. L., Schulzer, M., and McGeer, E. G. (1996). Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease A review of 17 epidemiologic studies. *Neurology*, (C), 425–432.
- Montine, T. J., Sidell, K. R., Crews, B. C., Markesbery, W. R., Marnett, L. J., Roberts, L. J., and Morrow, J. D. (1999). Elevated CSF prostaglandin E2 levels in patients with probable AD. *Neurology*, 53(7), 1495–8.
- Mrak, R. E., and Griffin, W. S. T. (2005). Potential inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 8(4), 369–75.
- Nakazawa, K., Quirk, M. C., Chitwood, R. A., Watanabe, M., Yeckel, M. F., Sun, L. D., Kato, A., Carr, C. A., Johnston, D., Wilson, M. A., and Tonegawa, S. (2002). Requirement for hippocampal CA3 NMDA receptors in associative memory recall. *Science (New York, N.Y.)*, 297(5579), 211–8.
- Nicoll, R. a, and Schmitz, D. (2005). Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(11), 863–76.
- Nielsen, M. D., Chan, G. C., Poser, S. W., and Storm, D. R. (1996). Differential regulation of type I and type VIII Ca²⁺-stimulated adenylyl cyclases by Gi-coupled receptors in vivo. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(52), 33308–16.
- Panickar, K. S., and Norenberg, M. D. (2005). Astrocytes in cerebral ischemic injury: morphological and general considerations. *Glia*, 50(4), 287–98.
- Rall, J. M., Mach, S. A., and Dash, P. K. (2003). Intrahippocampal infusion of a cyclooxygenase-2 inhibitor attenuates memory acquisition in rats. *Brain Research*, 968(2), 273–6.

- Reiserer, R. S., Harrison, F. E., Syverud, D. C., and McDonald, M. P. (2007). Impaired spatial learning in the APPSwe + PSEN1DeltaE9 bigenic mouse model of Alzheimer's disease. *Genes, Brain, and Behavior*, 6(1), 54–65.
- Rollenhagen, A., and Lübke, J. H. R. (2010). The mossy fiber bouton: the “common” or the “unique” synapse? *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 2, 2.
- Sachidhanandam, S., Blanchet, C., Jeantet, Y., Cho, Y. H., and Mulle, C. (2009). Kainate receptors act as conditional amplifiers of spike transmission at hippocampal mossy fiber synapses. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(15), 5000–8.
- Salin, P. a, Scanziani, M., Malenka, R. C., and Nicoll, R. a. (1996). Distinct short-term plasticity at two excitatory synapses in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(23), 13304–9.
- Sang, N., Zhang, J., Marcheselli, V., Bazan, N. G., and Chen, C. (2005). Postsynaptically synthesized prostaglandin E2 (PGE2) modulates hippocampal synaptic transmission via a presynaptic PGE2 EP2 receptor. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(43), 9858–70.
- Sastre, M., Klockgether, T., and Heneka, M. T. (2006). Contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease: molecular mechanisms. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 24(2-3), 167–76.
- Selkoe, D. (2002). Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science (New York, N.Y.)*, 298(5594), 789–91.
- Sharifzadeh, M., Tavasoli, M., Soodi, M., Mohammadi-Eraghi, S., Ghahremani, M. H., and Roghani, A. (2006). A time course analysis of cyclooxygenase-2 suggests a role in spatial memory retrieval in rats. *Neuroscience Research*, 54(3), 171–9.
- Shaw, K. N., Commins, S., and O'Mara, S. M. (2003). Deficits in spatial learning and synaptic plasticity induced by the rapid and competitive broad-spectrum cyclooxygenase inhibitor ibuprofen are reversed by increasing endogenous brain-derived neurotrophic factor. *The European Journal of Neuroscience*, 17(11), 2438–46.
- Sheng, M., Sabatini, B. L., and Südhof, T. C. (2012). Synapses and Alzheimer's disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(5).
- Shi, J., Wang, Q., Johansson, J. U., Liang, X., Woodling, N. S., Priyam, P., Loui, T. M., Merchant, M., Breyer, R. M., Montine, T. J., and Andreasson, K. (2012). Inflammatory prostaglandin E2 signaling in a mouse model of Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, 72(5), 788–98.
- Slawik, H. (2004). Microglial expression of prostaglandin EP3 receptor in excitotoxic lesions in the rat striatum. *Neurochemistry International*, 45(5), 653–660.

- Smith, W. L., Marnett, L. J., and DeWitt, D. L. (1991). Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacology & Therapeutics*, 49(3), 153–79.
- Teather, L. A., Packard, M. G., and Bazan, N. G. (2002). Post-training cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibition impairs memory consolidation. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 9(1), 41–7.
- Vasilache, A. M., Andersson, J., and Nilsberth, C. (2007). Expression of PGE2 EP3 receptor subtypes in the mouse preoptic region. *Neuroscience Letters*, 423(3), 179–83.
- Villacres, E. C., Wong, S. T., Chavkin, C., and Storm, D. R. (1998). Type I adenylyl cyclase mutant mice have impaired mossy fiber long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 18(9), 3186–94.
- Vincent, V. A. M., DeVoss, J. J., Ryan, H. S., and Murphy, G. M. (2002). Analysis of neuronal gene expression with laser capture microdissection. *Journal of Neuroscience Research*, 69(5), 578–86.
- Volianskis, A., K stner, R., M lgaard, M., Hass, S., and Jensen, M. S. (2010). Episodic memory deficits are not related to altered glutamatergic synaptic transmission and plasticity in the CA1 hippocampus of the APPswe/PS1 E9-deleted transgenic mice model of  -amyloidosis. *Neurobiology of Aging*, 31(7), 1173–87.
- Wang, H., Pineda, V. V., Chan, G. C. K., Wong, S. T., Muglia, L. J., and Storm, D. R. (2003). Type 8 adenylyl cyclase is targeted to excitatory synapses and required for mossy fiber long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(30), 9710–8.
- Willoughby, D., and Cooper, D. M. F. (2007). Organization and Ca²⁺ regulation of adenylyl cyclases in cAMP microdomains. *Physiological Reviews*, 87(3), 965–1010.
- Witton, J., Brown, J. T., Jones, M. W., and Randall, A. D. (2010). Altered synaptic plasticity in the mossy fibre pathway of transgenic mice expressing mutant amyloid precursor protein. *Molecular Brain*, 3, 32.
- Xia, Z. G., Refsdal, C. D., Merchant, K. M., Dorsa, D. M., and Storm, D. R. (1991). Distribution of mRNA for the calmodulin-sensitive adenylate cyclase in rat brain: expression in areas associated with learning and memory. *Neuron*, 6(3), 431–43.
- Yang, H., Zhang, J., Breyer, R. M., and Chen, C. (2009). Altered hippocampal long-term synaptic plasticity in mice deficient in the PGE2 EP2 receptor. *Journal of Neurochemistry*, 108(1), 295–304.
- Yasojima, K., Schwab, C., McGeer, E. G., and McGeer, P. L. (1999). Distribution of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mRNAs and proteins in human brain and peripheral organs. *Brain Research*, 830(2), 226–36.
- Zhu, P., Genc, A., Zhang, X., Zhang, J., Bazan, N. G., and Chen, C. (2005). Heterogeneous expression and regulation of hippocampal prostaglandin E2 receptors. *Journal of Neuroscience Research*, 81(6), 817–26.

Discussion et Perspectives

DISCUSSION

Lors de cette thèse, nous avons étudié les mécanismes d'action de PGE₂ sur la transmission et la plasticité synaptique à la synapse FM-CA3 de l'hippocampe, dans un contexte physiologique et dans un contexte neuroinflammatoire chronique chez un modèle murin de la maladie d'Alzheimer (MA), la souris APP^{swe}/PS1^{ΔE9}.

L'hippocampe est une structure essentielle pour les mécanismes d'apprentissage et de mémorisation. Avec le cortex préfrontal, l'hippocampe est la structure la plus impactée dans la MA. Parmi la myriade de facteurs inflammatoires produits au cours de la MA, PGE₂ semble jouer un rôle clé car sa production est fortement augmentée dans le cerveau des patients atteints de la MA et le blocage chronique de sa synthèse par des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) réduit la prévalence de la pathologie.

L'application de PGE₂ sur des tranches d'hippocampe issues de souris sauvages jeunes entraîne un déficit de la potentialisation à long-terme (PLT) présynaptique à la synapse FM-CA3 via l'activation spécifique de récepteurs EP3. Chez la souris APP^{swe}/PS1^{ΔE9} âgée de 12 mois qui présente une augmentation significative de la concentration de PGE₂ dans l'hippocampe, cette même PLT est fortement diminuée comparé à la souris sauvage du même âge. Le blocage du récepteur EP3 chez la souris APP^{swe}/PS1^{ΔE9} occulte la diminution de la PLT montrant ainsi que le seul déficit synaptique observé à la synapse FM-CA3 est dû à l'activation du récepteur EP3 par PGE₂.

Ces principaux résultats ouvrent la voie à de nombreuses questions notamment en ce qui concerne les mécanismes moléculaires et cellulaires de la voie de signalisation du récepteur EP3 dans la PLT présynaptique à la synapse FM-CA3.

Localisation cellulaire du récepteur EP3

Notre étude a permis de révéler l'implication du récepteur EP3 dans le déficit de la PLT présynaptique. L'ensemble de nos données électrophysiologiques et des données de la littérature concernant la voie de signalisation associée sont compatibles avec une expression présynaptique du récepteur EP3 sur la fibre moussue mais nous n'avons pas de preuve directe.

Les travaux récents de Shi et al. (2012) rapportent que la diminution de l'expression de protéines présynaptiques (synaptophysin, synapsin 1) et de protéines impliquées dans la libération vésiculaire de neurotransmetteurs (SNAP-25 et VAMP-2) chez la souris APPswe/PS1ΔE9 est réversée par la délétion du récepteur EP3. A l'inverse la diminution d'expression des protéines de la densité postsynaptique n'est pas affectée par la délétion du récepteur EP3. Ces résultats établissent que la voie de signalisation couplée au récepteur EP3 module sélectivement l'expression de protéines présynaptiques ce qui suggère indirectement une localisation présynaptique du récepteur.

Il n'existe pas de données solides concernant la mise en évidence par immunohistochimie des différents sous-types de récepteurs aux PGE₂ dans l'hippocampe. Ainsi dans nos mains, l'anticorps utilisé pour mettre en évidence le récepteur EP3 dans l'hippocampe (Zhu et al., 2005) donne le même marquage sur des cerveaux issus de souris sauvages et des souris EP3^{-/-} (Annexe 2).

Pour ces raisons techniques, le patron d'expression du récepteur EP3 dans l'hippocampe est donc inconnu. Afin de pallier à l'absence d'anticorps réellement spécifiques pour EP3, et d'affirmer ou d'infirmer son expression par les cellules granulaires du *gyrus* dentelé, nous avons prélevé par microdissection laser la couche pyramidale CA3 et la couche granulaire du *gyrus* dentelé pour détecter l'expression d'ARN messager du récepteur EP3 par PCR quantitative. L'ARNm du récepteur EP3 est notablement exprimé dans la couche granulaire du *gyrus* dentelé et à la limite de détection dans la couche CA3.

Ces résultats, s'ils nous permettent d'objectiver l'expression de l'ARNm du récepteur EP3 par les cellules granulaires, ne nous permettent pas d'affirmer que le récepteur EP3 est exprimé au niveau présynaptique à la synapse FM-CA3. Nous ne pouvons pas éliminer la possibilité d'une expression gliale du récepteur EP3 telle qu'elle a été décrite *in vitro* pour les astrocytes et la microglie (Kitanaka et al., 1996) et *in vivo* dans la microglie après lésion excitotoxique (Slawik, 2004).

Mécanismes cellulaires de l'effet de PGE₂ sur la PLT à la synapse FM-CA3

Le résultat principal de notre étude concerne l'altération de la PLT par PGE₂ via un récepteur EP3. L'absence de données certaines concernant la localisation du récepteur EP3 ne nous permet pas d'affirmer une mécanistique liant l'activation du récepteur EP3 par PGE₂ et l'altération de la PLT, mais nous pouvons tout de même proposer plusieurs hypothèses.

La première hypothèse, la plus plausible, est basée sur la localisation du récepteur EP3 directement sur le bouton présynaptique de la fibre moussue. L'activation du récepteur EP3 couplé à une protéine Gi/o entraîne l'inhibition de l'adenylyl cyclase, une diminution de la production d'AMPc et donc une diminution de l'activité de la PKA dans le bouton. Une diminution de l'activité de la PKA entraîne une diminution de la probabilité de libération dans le bouton présynaptique. En effet, la PKA phosphoryle certaines protéines impliquées dans la libération de glutamate comme la Rabphilin 3A (Castillo et al., 1997b), ou Rim1 α (Chevaleyre and Castillo, 2002). Cette phosphorylation va entraîner une augmentation de la libération de neurotransmetteurs au niveau de chaque zone active de la synapse FM-CA3 augmentant ainsi la probabilité de libération globale dans le bouton présynaptique. L'activation du récepteur EP3 pourrait donc directement inhiber l'adenylyl cyclase 1 (AC1) dans le bouton présynaptique, diminuant l'activité de la PKA et donc la probabilité de libération globale dans le bouton présynaptique.

Une deuxième hypothèse implique un mécanisme indirect. PGE₂ inhibe la libération de monoamines via l'activation de récepteurs EP3 (Reimann et al., 1981; Schlicker et al., 1987; Exner and Schlicker, 1995; Günther et al., 2010), or l'induction de la PLT présynaptique à la synapse FM-CA3 nécessite l'activation de récepteurs β -adrénergiques (Hopkins and Johnston, 1984, 1988; Sakai et al., 1991; Huang and Kandel, 1996; Hagen and Manahan-Vaughan, 2012). Les récepteurs β -adrénergiques sont des récepteurs couplés à une protéine G stimulatrice. La noradrénaline en se fixant sur ses récepteurs activerait donc l'adenylyl cyclase présynaptique et augmenterait l'activité de la PKA. En activant des récepteurs EP3 sur les terminaisons noradrénergiques au voisinage de la synapse FM-CA3, PGE₂ bloquerait la libération de noradrénaline. Cette absence de noradrénaline entraînerait une diminution de l'activité de la PKA sur les cibles de la machinerie vésiculaire dans le bouton présynaptique et donc empêcherait le déclenchement de la PLT présynaptique. Afin de tester cette hypothèse, il faudrait activer directement les récepteurs β -adrénergiques de la fibre moussue et appliquer PGE₂. La perte de l'innervation adrénérergique due à PGE₂, pourrait être compensée par l'activation directe des récepteurs β -adrénergiques et entraîner une restauration partielle ou totale de la PLT.

Une troisième hypothèse impliquerait une expression gliale du récepteur EP3 dont l'activation modulerait la libération d'un facteur diffusible agissant sur la PLT à la synapse FM-CA3. Ce mécanisme suppose que la glie puisse agir sur la PLT présynaptique en conditions basales ce qui à ce jour n'a jamais été démontré. Pour les astrocytes, un candidat

plausible pourrait être le glutamate néanmoins la morphologie particulière de la synapse FM-CA3 ne semble pas permettre la présence de fins prolongements astrocytaires à proximité des sites actifs de libération (Rollenhagen et al., 2007). L'implication des cellules gliales est donc très hypothétique et la première étape serait de mettre en évidence l'implication des différents types de cellules gliales dans la transmission basale et dans les différents types de plasticités à court terme et à long terme à la synapse FM-CA3.

PGE₂ ne module pas la transmission synaptique basale à la synapse FM-CA3

Selon notre hypothèse mécanistique la plus plausible, PGE₂ inhibe la PLT présynaptique par la diminution de la concentration d'AMPc et la diminution de l'activité de la PKA. Néanmoins, la transmission basale n'est pas affectée par l'application de PGE₂. La transmission basale à la synapse FM-CA3 est connue pour être dépendante de la concentration d'AMPc dans le bouton présynaptique et une variation de cette concentration entraîne des variations d'amplitudes des réponses synaptiques. Dans ce contexte, la question se pose de savoir pourquoi l'activation du récepteur EP3 n'affecte pas la transmission basale. Plusieurs hypothèses explicatives, qui dépendent ici aussi de la localisation du récepteur EP3, peuvent être envisagées.

Dans l'hypothèse où le récepteur EP3 se situe sur le bouton présynaptique de la fibre moussue, l'activation de ce récepteur couplé à une protéine Gi/o induit l'inhibition de l'adenylyl cyclase. Il existe deux types d'adenylyl cyclase dans la terminaison présynaptique à la synapse FM-CA3: l'adenylyl cyclase 1 (AC1) et 8 (AC8 ; Xia et al., 1993; Cali et al., 1994). AC8 est considérée comme un senseur calcique pur puisque elle n'est ni stimulée ni inhibée par les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG ; Nielsen et al., 1996). Seule AC1 peut fonctionner comme un détecteur de coïncidence répondant à une augmentation de calcium intracellulaire et à l'activation de RCPG. L'activation du récepteur EP3 entraînerait donc l'inhibition spécifique d'AC1. Néanmoins, une étude a montré que la délétion simultanée d'AC1 et d'AC8 dans l'hippocampe provoquait une diminution de la PLT présynaptique mais n'avait aucun effet sur la transmission basale (Wang et al., 2003). Ce résultat démontre que l'inhibition seule d'AC1 peut entraîner une inhibition de la PLT présynaptique sans action sur la transmission basale ce qui est en accord avec nos résultats qui montrent une diminution de la PLT via le récepteur EP3 couplé à l'AC1, et ceci sans action sur la transmission synaptique basale.

Dans l'hypothèse où le récepteur EP3 est exprimé par les terminaisons noradrénergiques, l'absence d'effets de PGE_2 sur la transmission basale peut être expliquée simplement. En effet, la noradrénaline via les récepteurs β -adrénergiques n'est pas impliquée dans les réponses synaptiques basales à la synapse FM-CA3 alors qu'elle est impliquée dans la PLT présynaptique (Hagena and Manahan-Vaughan, 2012). L'inhibition de la libération de la noradrénaline par l'activation du récepteur EP3 n'aurait ainsi d'effets que sur la PLT présynaptique et pas sur la transmission basale.

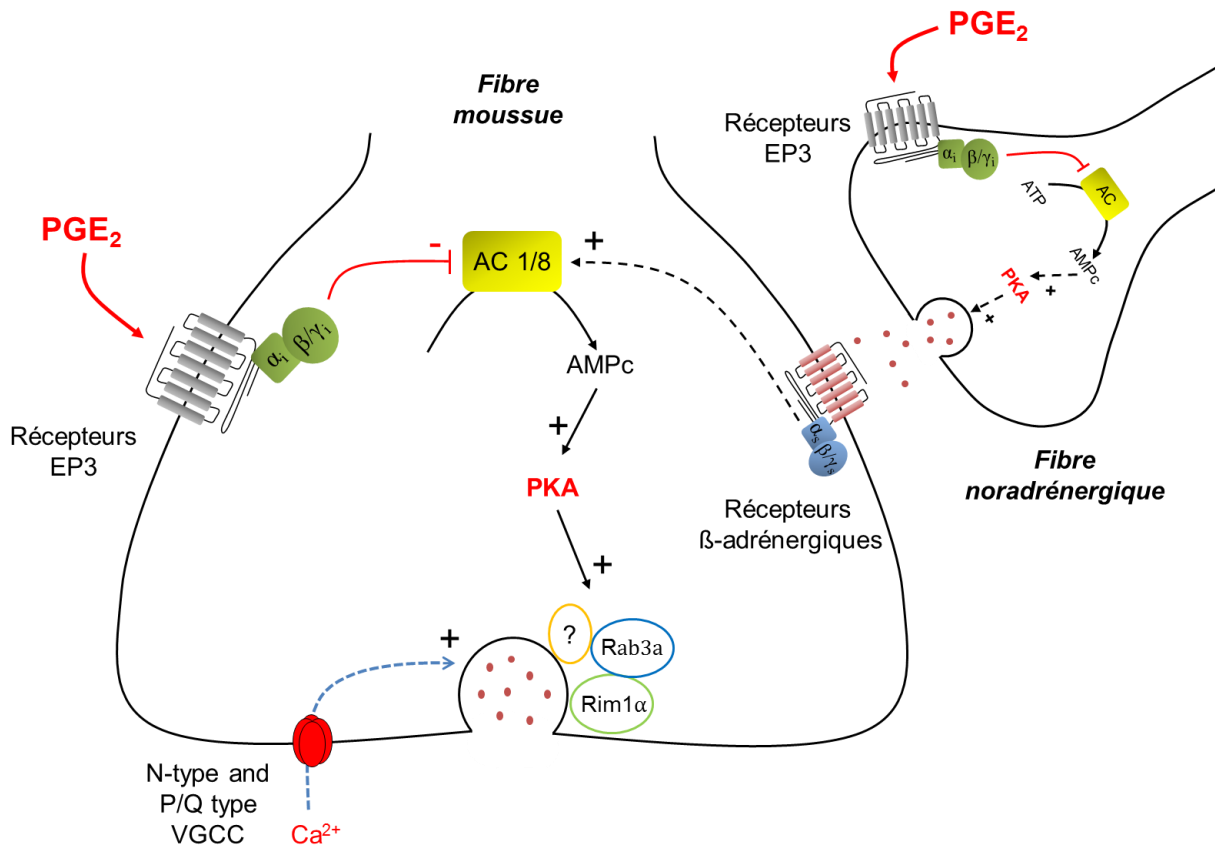


Figure 13. Hypothèse de l'action de PGE_2 sur la PLT présynaptique.

Schéma illustrant les hypothèses mécanistiques responsables de l'inhibition de la PLT présynaptique par PGE_2 . La première hypothèse est une action directe sur les récepteurs EP3 localisés au niveau du bouton présynaptique de la fibre moussue. L'activation du récepteur EP3 diminue l'activité de l'adénylate cyclase (AC) au niveau du bouton entraînant une diminution de l'activité de PKA et une diminution de la libération de glutamate. La deuxième hypothèse est une action indirecte via une innervation noradrénergique de la fibre moussue. L'activation de récepteurs β -adrénergiques est nécessaire à l'induction de la PLT présynaptique à la fibre moussue. L'activation des récepteurs EP3 présynaptique inhiberait la libération de noradrénaline par les fibres noradrénergiques ce qui conduirait à une diminution de l'activation des récepteurs β -adrénergiques du bouton présynaptique et à une inhibition de la PLT.

Augmentation de la production de PGE₂ chez les souris APP/PS1 à 12 mois

Notre étude montre une tendance à l'augmentation de la concentration de PGE₂ dans l'hippocampe à 9 mois et une augmentation significative à 12 mois chez la souris APPswe/PS1ΔE9. Nos résultats sont donc en accord avec une étude récente qui détermine que l'expression de nombreuses molécules inflammatoires commence à augmenter de façon significative à partir de 8-9 mois dans l'hippocampe de souris APPswe/PS1ΔE9 (Shi et al., 2012). Dans cette étude les auteurs indiquent que PGE₂ via l'activation du récepteur EP3 entraîne une augmentation de l'expression des enzymes responsables de la synthèse de PGE₂ (Cox-2). Nos résultats qui montrent une augmentation significative de la concentration de PGE₂ dans l'hippocampe à 12 mois pourraient s'expliquer par une augmentation progressive de l'activation du récepteur EP3 entre 9 et 12 mois. Cette augmentation de concentration de PGE₂ suivrait donc temporellement l'augmentation de l'expression du récepteur EP3 dans l'hippocampe.

Notre étude nous a permis de mettre en évidence une augmentation de la concentration de PGE₂ dans l'hippocampe chez la souris APPswe/PS1ΔE9 vers 12 mois. Néanmoins ce résultat ne nous permet pas de connaître précisément quel type cellulaire est à l'origine de cette augmentation. Il existe plusieurs sources possibles, non exclusives, de la production de PGE₂ dans le tissu cérébral. PGE₂ peut être libéré par la microglie mais aussi par les neurones et les astrocytes (Pistritto et al., 1999; Sang et al., 2005). Les enzymes clés de la synthèse de PGE₂, c'est à dire les Cox et mPGES sont co-exprimées dans les neurones pyramidaux de l'hippocampe et leur expression est fortement augmentée dans la MA (Chaudhry et al., 2010). D'autre part, *in vitro*, les fibrilles d'Aβ peuvent activer plusieurs complexes de récepteurs microgliaux comme celui formé du récepteur CD36, de la protéine associée aux intégrines CD47 et de l'intégrine α₆β₁ (Bamberger et al., 2003) ou celui formé par le récepteur CD14 et le récepteur de type Toll (dimère de TLR2 et TLR4) et elles peuvent conduire à la libération de facteurs inflammatoires (Griffin et al., 1998; Lindberg et al., 2005). Toujours *in vitro*, les oligomères d'Aβ augmentent l'expression de Cox-2 dans les astrocytes et entraînent une libération de PGE₂ par les astrocytes, libération qui dépend de la PKC (Hüll et al., 2006). Ces résultats *in vitro* permettent de suggérer que dans le cadre de la MA, les astrocytes et les cellules microgliales sont capables d'augmenter leur production de PGE₂ en réponse à une exposition chronique au peptide Aβ.

Le blocage pharmacologique ou l'invalidation génétique de la microglie (et/ou des astrocytes) pourrait nous permettre de préciser le ou les types cellulaires à l'origine de la production de PGE₂ pour ensuite étudier les modalités de cette production (boucle inflammatoire, activité électrique neuronale...).

Déficits à la synapse FM-CA3 chez les souris APP/PS1

Dans cette étude nous avons mis en évidence un déficit de la PLT présynaptique à partir de 12 mois chez la souris APPswe/PS1ΔE9. La transmission synaptique basale et les différentes plasticités à court terme ne sont pas affectées chez ces animaux jusqu'à 9 mois. Ces résultats sont confortés par d'autres travaux réalisés dans l'équipe (Silvia Silva, communication personnelle) et sont les premières données obtenues à la synapse FM-CA3 chez la souris APPswe/PS1ΔE9. Dans ce modèle murin de la MA, le dépôt de plaques amyloïdes commence vers l'âge de 6 mois pour atteindre un niveau important vers 12 mois (Jankowsky et al., 2004; Burgess et al., 2006). L'étude de Shi et al, (2012) situe le début de l'expression des gènes inflammatoires et de l'augmentation de l'expression du récepteur EP3 dans l'hippocampe vers l'âge de 8 mois. Pour une même souris transgénique, la littérature fait apparaître une certaine hétérogénéité en ce qui concerne l'âge d'apparition des altérations cognitives, ceci en raison de la multiplicité des tests comportementaux utilisés qui ne testent pas tous les mêmes modalités mnésiques. Pour la souris APPswe/PS1ΔE9, de nombreux travaux situent l'apparition des premiers déficits de la mémoire spatiale et de l'apprentissage vers 6-7 mois (Howlett et al., 2004; Jankowsky et al., 2005; Filali and Lalonde, 2009; Kilgore et al., 2010).

Nos résultats montrent que les déficits synaptiques observés à la synapse FM-CA3 apparaissent décalés dans le temps par rapport aux déficits cognitifs et à l'augmentation de l'expression de certains facteurs inflammatoires (Cox-2, iNOS, IL-1β, TNFα... ; Shi et al., 2012). En revanche, le déficit de la PLT présynaptique suit le même agenda que l'augmentation de la concentration de PGE₂ dans l'hippocampe et coïncide avec le tout début de l'apparition de plaques amyloïdes dans le *hilus* du *gyrus* dentelé et dans le *stratum lucidum* (Annexe 3). Il semble donc difficile de corréler des déficits précoces de la mémoire spatiale et de l'apprentissage avec un déficit plus tardif de la PLT présynaptique à la synapse FM-CA3. En revanche, de nombreuses études ainsi que des résultats obtenus au sein de l'équipe montrent que la souris APPswe/PS1ΔE9 présente, à la synapse FM-CA3 ainsi qu'à la synapse fibre associative/commissurale-CA3, des déficits de plasticités à long terme postsynaptiques

liés aux récepteurs NMDA (Silvia Silva, communication personnelle). Ces déficits synaptiques sont décrits comme associés aux oligomères A β et à leur capacité à interférer avec la voie de signalisation glutamatergique notamment par une perturbation de la recapture du glutamate. Il en résulterait une augmentation de l'activation de récepteurs NMDA extrasynaptiques conduisant à un déficit de plasticité (Li et al., 2009, 2011).

En l'absence de tests comportementaux ciblant spécifiquement la fonctionnalité de la synapse FM-CA3, il est difficile d'attribuer un corrélat fonctionnel au déficit de la PLT présynaptique à cette synapse induit par PGE₂ via le récepteur EP3. A ce titre il apparaît important de choisir et/ou de définir des tests les plus spécifiques possibles de cette synapse (cf Perspectives).

PERSPECTIVES

Les travaux réalisés au cours de cette étude ont démontré pour la première fois l'implication d'une molécule inflammatoire sur les déficits de plasticités présynaptiques dans l'hippocampe dans le contexte de la maladie d'Alzheimer. D'après nos résultats, l'activation des récepteurs EP3 par la PGE₂ empêche l'induction d'une plasticité synaptique à long terme dans l'hippocampe, structure impliquée dans les phénomènes de mémorisation et d'apprentissage.

Sur la base de cette étude électrophysiologique *ex vivo*, plusieurs pistes de recherche sont envisageables. L'effet de PGE₂ sur la PLT présynaptique est-il relié à une altération de la mémoire chez la souris APPswe/PS1ΔE9 ? Si oui est-il possible de bloquer cette altération par une stratégie interventionniste *in vivo* précoce et/ou aigue ?

Le conditionnement de peur contextuelle (CPC) semble être un bon candidat pour tester le fonctionnement de la synapse FM-CA3. Le blocage de la PLT présynaptique à cette synapse altère le conditionnement de peur contextuelle (Otto et al., 2001). D'autre part, l'injection directe de PGE₂ dans l'hippocampe (à une concentration finale de l'ordre de 50-100μM) altère le CPC (Hein et al., 2007). A partir de ces études, nous formulons l'hypothèse que l'effet de PGE₂ via le récepteur EP3 sur la PLT présynaptique à la synapse FM-CA3 pourrait altérer le CPC. L'activation sélective du récepteur EP3 *in vivo* (injection directe intra-hippocampale) permettrait de valider ou d'infirmer cette hypothèse. Le traitement chronique par un antagoniste du récepteur EP3 (administration *per os*) suivi de l'injection intra-hippocampale directe de l'antagoniste EP3 permettrait de tester l'efficacité éventuelle d'une stratégie interventionniste dans un but clinique.

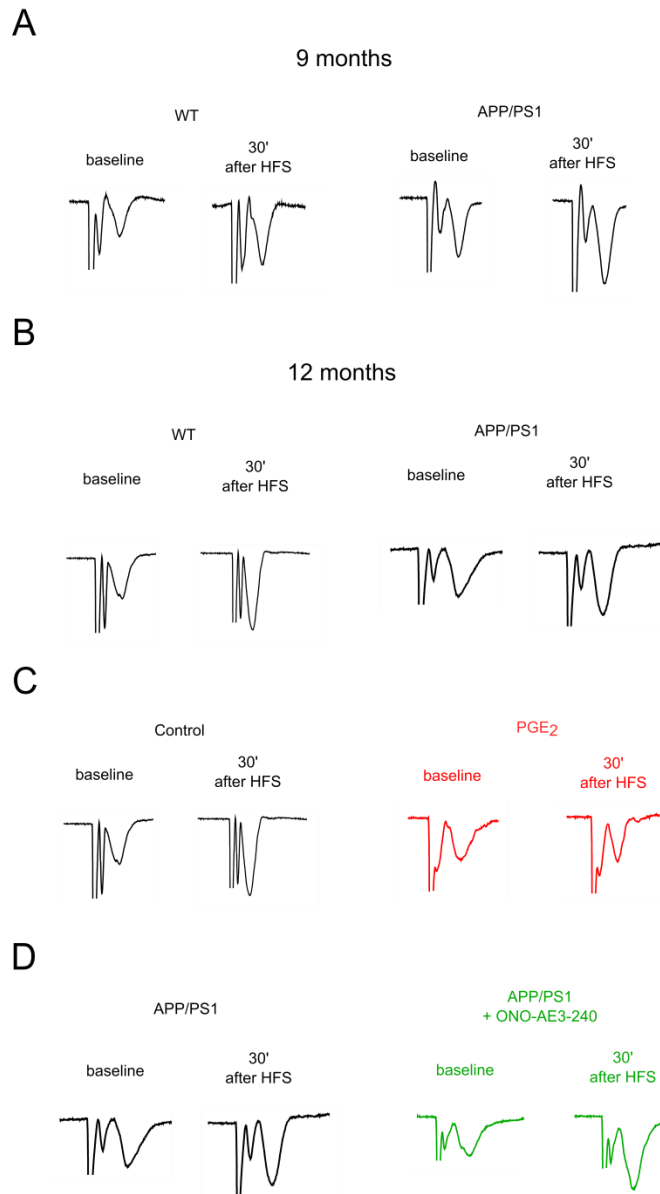
Si PGE₂ via l'activation du récepteur EP3 est impliquée dans l'altération du CPC chez la souris sauvage, il est possible que ce mécanisme soit aussi impliqué dans les déficits du CPC observés chez la souris APPswe/PS1ΔE9 (Kilgore et al., 2010). Le traitement chronique par l'antagoniste du récepteur EP3 permettrait de répondre à cette question. Il convient de remarquer que les déficits du CPC commencent dès l'âge de 6 mois chez la souris APPswe/PS1ΔE9 (Kilgore et al., 2010), aussi PGE₂ n'est probablement pas la seule molécule inflammatoire impliquée dans ces déficits. L'intervention de PGE₂ à un stade plus tardif pourrait aggraver les déficits du CPC.

Il est généralement admis que la composante neuroinflammatoire de la MA installe la pathologie dans un cercle vicieux où plus de neuroinflammation aggrave la pathologie qui en retour provoque plus de neuroinflammation. L'existence de ce cercle délétère semble se retrouver à un échelon inférieur pour lequel l'augmentation de la concentration de PGE₂ induit une augmentation de l'expression du récepteur EP3 dans l'hippocampe, lui-même lié à l'induction de Cox-2 et donc à une production accrue de PGE₂. L'interruption de ce cercle délétère via un antagoniste du récepteur EP3 pourrait ainsi avoir des effets bénéfiques tant sur le plan de la plasticité synaptique dans l'hippocampe que sur un plan cognitif.

De récentes études cliniques ont montré l'efficacité de traitements par des AINS pour des stades précoces de la MA alors que leur administration pour des stades avancés est inefficace ou entraîne une aggravation des symptômes de la maladie. Notre étude qui montre l'implication spécifique d'un type de récepteur de PGE₂, le récepteur EP3, dans le déficit de la plasticité synaptique à long terme permet d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques qui viseraient à bloquer spécifiquement ce récepteur. Ce ciblage permettrait une spécificité d'action tout en évitant de bloquer complètement la réaction inflammatoire qui aurait un effet bénéfique dans des stades tardifs de la MA. D'autre part le ciblage d'un récepteur au lieu du blocage de la synthèse de PGE₂ en amont permettrait de conserver les fonctions physiologiques de PGE₂ et de limiter les nombreux effets secondaires liés à la prise d'AINS.

Annexes

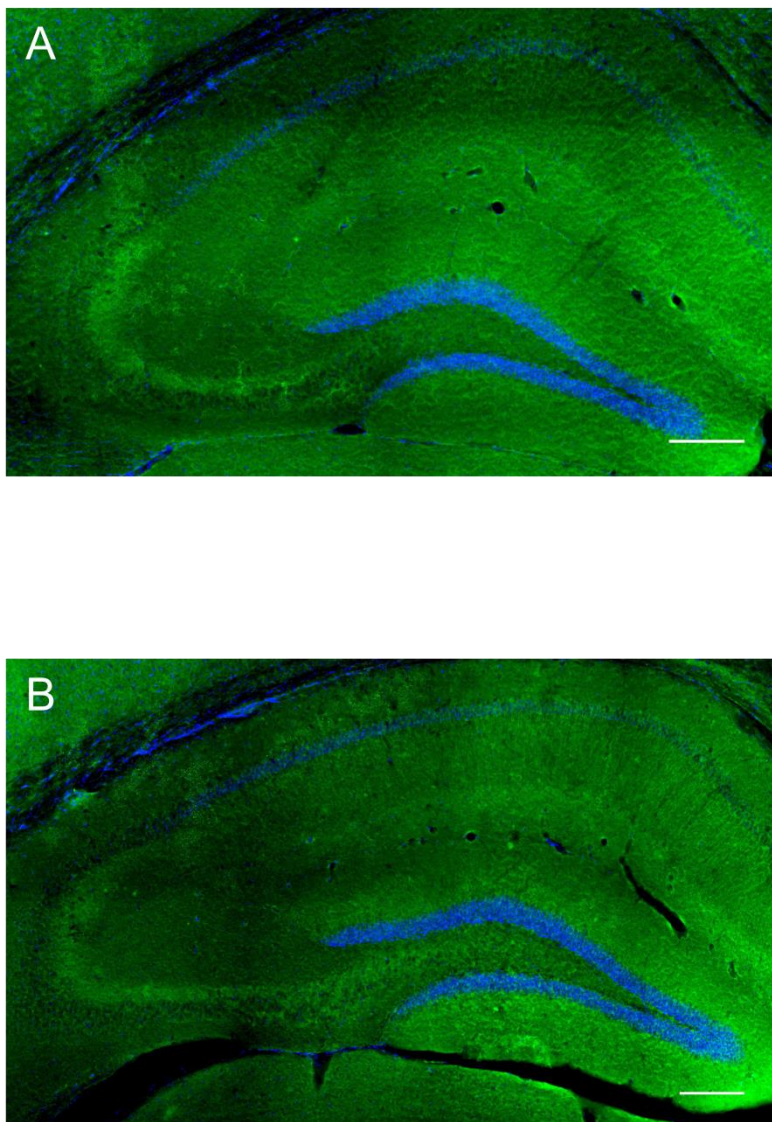
Annexe 1



Annexe 1: Exemples de potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE) enregistrés après stimulation extracellulaire lors de protocoles de PLT présynaptique.

A. Traces représentatives de réponses postsynaptiques avant induction de la PLT par stimulation haute fréquence (baseline) et 30 minutes après l'induction (30' after HFS). Les traces ont été enregistrées chez des souris sauvages de 9 mois et des souris APP/PS1 de 12 mois. **B.** Mêmes enregistrements sur des souris âgées de 12 mois. **C.** Enregistrements sur des souris sauvages à 12 mois en conditions contrôle (noir) ou en présence de PGE₂ (10 μM) dans le milieu extracellulaire (rouge). **D.** Enregistrements sur des souris APP/PS1 à 12 mois

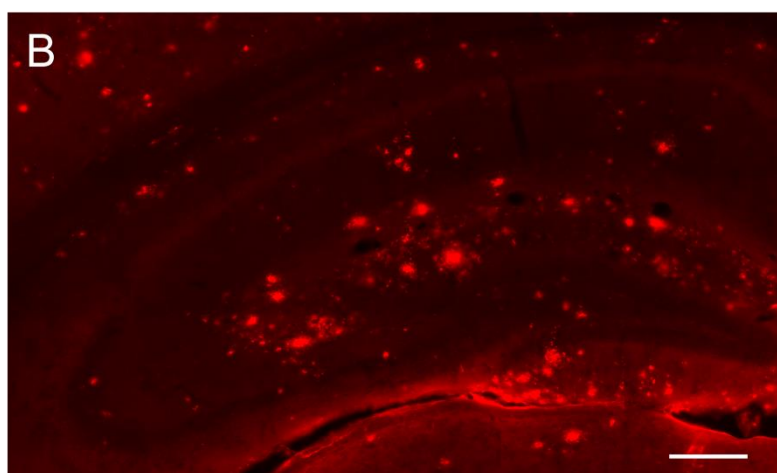
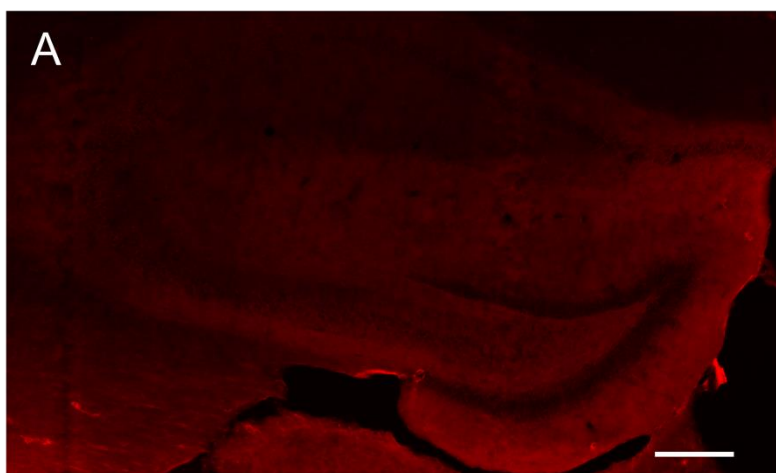
Annexe 2



Annexe 2: Marquage du récepteur EP3 dans l'hippocampe

Hippocampes de souris P21 marqués avec un anticorps dirigé contre le récepteur EP3 (en vert) et contre les corps cellulaires neuronaux par un marquage DAPI (en bleu). **A.** hippocampe de souris EP3^{+/+}. **B.** hippocampe de souris EP3^{-/-}. La barre d'échelle correspond à 200 μ m.

Annexe 3



Annexe 3: Marquage des plaques amyloïdes

Hippocampes de souris marqués avec un anticorps dirigé contre le peptide Aβ₁₋₁₆ (en rouge). **A.** Hippocampe de souris sauvage âgée de 12 mois. **B.** Hippocampe de souris APP/PS1 âgée de 12 mois. Noter que le *hilus* et le *stratum lucidum* sont quasiment dépourvus de plaques amyloïdes à l'inverse du *stratum moleculare* qui présente de nombreuses plaques amyloïdes. La barre d'échelle correspond à 200 μm.

Bibliographie

BIBLIOGRAPHIE

- Ahmad, A. S., Saleem, S., Ahmad, M., and Doré, S. (2006). Prostaglandin EP1 receptor contributes to excitotoxicity and focal ischemic brain damage. *Toxicological Sciences : An Official Journal of the Society of Toxicology*, 89(1), 265–70.
- Ahmadi, S., Lippross, S., Neuhuber, W. L., and Zeilhofer, H. U. (2002). PGE(2) selectively blocks inhibitory glycinergic neurotransmission onto rat superficial dorsal horn neurons. *Nature Neuroscience*, 5(1), 34–40.
- Aisen, P., Schafer, K., and Grundman, M. (2003). Effects of rofecoxib or naproxen vs placebo on Alzheimer disease progression: a randomized controlled trial. *Jama*, 289(21), 2819–2826.
- Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., and Bradt, B. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 21, 383–421.
- Akiyama, H., Kondo, H., Mori, H., Kametani, F., Nishimura, T., Ikeda, K., Kato, M., and McGeer, P. L. (1996). The amino-terminally truncated forms of amyloid beta-protein in brain macrophages in the ischemic lesions of Alzheimer's disease patients. *Neuroscience Letters*, 219(2), 115–8.
- Albert, M. S. (2011). Changes in cognition. *Neurobiology of Aging*, 32 Suppl 1(0 1), S58–63.
- Alzheimer, A. (1907). Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und phychish-Gerichtliche Medizin*, (Berlin) 64: 146-148.
- Amaral, D. G., and Dent, J. A. (1981). Development of the mossy fibers of the dentate gyrus: I. A light and electron microscopic study of the mossy fibers and their expansions. *The Journal of Comparative Neurology*, 195(1), 51–86.
- Amaral, D. G., Ishizuka, N., and Claiborne, B. (1990). Neurons, numbers and the hippocampal network. *Progress in Brain Research*, 83, 1–11.
- Anand, R., Gill, K. D., and Mahdi, A. A. (2014). Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology*, 76 Pt A, 27–50.
- Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., and Haydon, P. G. (1999). Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends in Neurosciences*, 22(5), 208–15.
- Arendt, T. (2009). Synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 118(1), 167–79.
- Arriagada, P. V, Growdon, J. H., Hedley-Whyte, E. T., and Hyman, B. T. (1992). Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology*, 42(3 Pt 1), 631–9.

- Asai, M., Hattori, C., Szabó, B., Sasagawa, N., Maruyama, K., Tanuma, S., and Ishiura, S. (2003). Putative function of ADAM9, ADAM10, and ADAM17 as APP alpha-secretase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 301(1), 231–5.
- Ashe, K. H., and Zahs, K. R. (2010). Probing the biology of Alzheimer's disease in mice. *Neuron*, 66(5), 631–45.
- Atwood, C. S., Moir, R. D., Huang, X., Scarpa, R. C., Bacarra, N. M., Romano, D. M., Hartshorn, M. A., Tanzi, R. E., and Bush, A. I. (1998). Dramatic aggregation of Alzheimer abeta by Cu(II) is induced by conditions representing physiological acidosis. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(21), 12817–26.
- Audoly, L. P., Tilley, S. L., Goulet, J., Key, M., Nguyen, M., Stock, J. L., McNeish, J. D., Koller, B. H., and Coffman, T. M. (1999). Identification of specific EP receptors responsible for the hemodynamic effects of PGE2. *The American Journal of Physiology*, 277(3 Pt 2), H924–30.
- Ballatore, C., Lee, V. M.-Y., and Trojanowski, J. Q. (2007). Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nature Reviews. Neuroscience*, 8(9), 663–72.
- Bamberger, M. E., Harris, M. E., McDonald, D. R., Husemann, J., and Landreth, G. E. (2003). A Cell Surface Receptor Complex for Fibrillar Beta-Amyloid Mediates Microglial Activation, 23(7), 2665–2674.
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., and Lippa, A. S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science (New York, N.Y.)*, 217(4558), 408–14.
- Bauer, M. K., Lieb, K., Schulze-Osthoff, K., Berger, M., Gebicke-Haerter, P. J., Bauer, J., and Fiebich, B. L. (1997). Expression and regulation of cyclooxygenase-2 in rat microglia. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 243(3), 726–31.
- Beard, C. M., Kokman, E., and Kurland, L. T. (1991). Rheumatoid arthritis and susceptibility to Alzheimer's disease. *Lancet*, 337(8754), 1426.
- Beard, C. M., Waring, S. C., O'Brien, P. C., Kurland, L. T., and Kokmen, E. (1998). Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and Alzheimer's disease: a case-control study in Rochester, Minnesota, 1980 through 1984. *Mayo Clinic Proceedings*, 73(10), 951–5.
- Beatty, W. W., Salmon, D. P., Butters, N., Heindel, W. C., and Granholm, E. L. (1988). Retrograde amnesia in patients with Alzheimer's disease or Huntington's disease. *Neurobiology of Aging*, 9(2), 181–6.
- Begcevic, I., Kosanam, H., Martínez-Morillo, E., Dimitromanolakis, A., Diamandis, P., Kuzmanov, U., Hazrati, L.-N., and Diamandis, E. P. (2013). Semiquantitative proteomic analysis of human hippocampal tissues from Alzheimer's disease and age-matched control brains. *Clinical Proteomics*, 10(1), 5.

- Bekirov, I. H., Nagy, V., Svoronos, A., Huntley, G. W., and Benson, D. L. (2008). Cadherin-8 and N-cadherin differentially regulate pre- and postsynaptic development of the hippocampal mossy fiber pathway. *Hippocampus*, 18(4), 349–63.
- Bennett, J. A., and Dingledine, R. (1995). Topology profile for a glutamate receptor: three transmembrane domains and a channel-lining reentrant membrane loop. *Neuron*, 14(2), 373–84.
- Berchtold-Kanz, E., Anhut, H., Heldt, R., Neufang, B., and Hertting, G. (1981). Regional distribution of arachidonic acid metabolites in rat brain following convulsive stimuli. *Prostaglandins*, 22(1), 65–79.
- Bero, A. W., Yan, P., Roh, J. H., Cirrito, J. R., Stewart, F. R., Raichle, M. E., Lee, J.-M., and Holtzman, D. M. (2011). Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. *Nature Neuroscience*, 14(6), 750–6.
- Bilak, M., Wu, L., Wang, Q., Haughey, N., Conant, K., St Hillaire, C., and Andreasson, K. (2004). PGE2 receptors rescue motor neurons in a model of amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*, 56(2), 240–8.
- Billings, L. M., Oddo, S., Green, K. N., McGaugh, J. L., and LaFerla, F. M. (2005). Intraneuronal A β causes the onset of early Alzheimer's disease-related cognitive deficits in transgenic mice. *Neuron*, 45(5), 675–88.
- Blackstad, T. W., Brink, K., Hem, J., and Jeune, B. (1970). Distribution of hippocampal mossy fibers in the rat. An experimental study with silver impregnation methods. *The Journal of Comparative Neurology*, 138(4), 433–49.
- Blackstad, T. W., and Kjaerheim, A. (1961). Special axo-dendritic synapses in the hippocampal cortex: electron and light microscopic studies on the layer of mossy fibers. *The Journal of Comparative Neurology*, 117, 133–59.
- Blennow, K., de Leon, M. J., and Zetterberg, H. (2006). Alzheimer's disease. *Lancet*, 368(9533), 387–403.
- Block, M. L., Zecca, L., and Hong, J.-S. (2007). Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nature Reviews. Neuroscience*, 8(1), 57–69.
- Blum-Degen, D., Müller, T., Kuhn, W., Gerlach, M., Przuntek, H., and Riederer, P. (1995). Interleukin-1 beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's and de novo Parkinson's disease patients. *Neuroscience Letters*, 202(1-2), 17–20.
- Borchelt, D. R., Ratovitski, T., van Lare, J., Lee, M. K., Gonzales, V., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., Price, D. L., and Sisodia, S. S. (1997). Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. *Neuron*, 19(4), 939–45.
- Borchelt, D. R., Thinakaran, G., Eckman, C. B., Lee, M. K., Davenport, F., Ratovitsky, T., Prada, C. M., Kim, G., Seekins, S., Yager, D., Slunt, H. H., Wang, R., Seeger, M.,

- Levey, A. I., Gandy, S. E., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Price, D. L., Younkin, S. G., and Sisodia, S. S. (1996). Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate A β 1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. *Neuron*, 17(5), 1005–13.
- Bortolotto, Z. A., Clarke, V. R., Delany, C. M., Parry, M. C., Smolders, I., Vignes, M., Ho, K. H., Miu, P., Brinton, B. T., Fantaske, R., Ogden, A., Gates, M., Ornstein, P. L., Lodge, D., Bleakman, D., and Collingridge, G. L. (1999). Kainate receptors are involved in synaptic plasticity. *Nature*, 402(6759), 297–301.
- Bos, C. L., Richel, D. J., Ritsema, T., Peppelenbosch, M. P., and Versteeg, H. H. (2004). Prostanoids and prostanoid receptors in signal transduction. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(7), 1187–205.
- Bowie, D., and Mayer, M. L. (1995). Inward rectification of both AMPA and kainate subtype glutamate receptors generated by polyamine-mediated ion channel block. *Neuron*, 15(2), 453–62.
- Bradwejn, J., and de Montigny, C. (1984). Benzodiazepines antagonize cholecystokinin-induced activation of rat hippocampal neurones. *Nature*, 312(5992), 363–4.
- Breitner, J. C., Baker, L., and Montine, T. (2011). Extended results of the Alzheimer's disease anti-inflammatory prevention trial. *Alzheimers Dementia*, 7(4), 402–411.
- Breitner, J. C., Gau, B. A., Welsh, K. A., Plassman, B. L., McDonald, W. M., Helms, M. J., and Anthony, J. C. (1994). Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study. *Neurology*, 44(2), 227–32.
- Breitner, J. C., Welsh, K. A., Gau, B. A., McDonald, W. M., Steffens, D. C., Saunders, A. M., Magruder, K. M., Helms, M. J., Plassman, B. L., and Folstein, M. F. (1995). Alzheimer's disease in the National Academy of Sciences-National Research Council Registry of Aging Twin Veterans. III. Detection of cases, longitudinal results, and observations on twin concordance. *Archives of Neurology*, 52(8), 763–71.
- Breitner, J. C., and Zandi, P. P. (2001). Do nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce the risk of Alzheimer's disease? *The New England Journal of Medicine*, 345(21), 1567–8.
- Breustedt, J., Vogt, K. E., Miller, R. J., Nicoll, R. a, and Schmitz, D. (2003). Alpha1E-containing Ca²⁺ channels are involved in synaptic plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(21), 12450–5.
- Breyer, R. M., and Bagdassarian, C. (2001). Prostanoid receptors: subtypes and signaling 1. *Annual Review of*
- Breyer, R. M., Bagdassarian, C. K., Myers, S. A., and Breyer, M. D. (2001). Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41, 661–90.
- Breyer, R. M., Davis, L. S., Nian, C., Redha, R., Stillman, B., Jacobson, H. R., and Breyer, M. D. (1996). Cloning and expression of the rabbit prostaglandin EP4 receptor. *The American Journal of Physiology*, 270(3 Pt 2), F485–93.

- Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., and Hof, P. R. (2000). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 33(1), 95–130.
- Burgess, B. L., McIsaac, S. a, Naus, K. E., Chan, J. Y., Tansley, G. H. K., Yang, J., Miao, F., Ross, C. J. D., van Eck, M., Hayden, M. R., van Nostrand, W., St George-Hyslop, P., Westaway, D., and Wellington, C. L. (2006). Elevated plasma triglyceride levels precede amyloid deposition in Alzheimer's disease mouse models with abundant A beta in plasma. *Neurobiology of Disease*, 24(1), 114–27.
- Burnashev, N., Zhou, Z., Neher, E., and Sakmann, B. (1995). Fractional calcium currents through recombinant GluR channels of the NMDA, AMPA and kainate receptor subtypes. *The Journal of Physiology*, 485 (Pt 2, 403–18.
- Bushong, E. A., Martone, M. E., Jones, Y. Z., and Ellisman, M. H. (2002). Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(1), 183–92.
- Cagnin, A., Brooks, D. J., Kennedy, A. M., Gunn, R. N., Myers, R., Turkheimer, F. E., Jones, T., and Banati, R. B. (2001). In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *Lancet*, 358(9280), 461–7.
- Cali, J. J., Zwaagstra, J. C., Mons, N., Cooper, D. M., and Krupinski, J. (1994). Type VIII adenylyl cyclase. A Ca²⁺/calmodulin-stimulated enzyme expressed in discrete regions of rat brain. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(16), 12190–5.
- Callahan, L. M., and Coleman, P. D. (1995). Neurons bearing neurofibrillary tangles are responsible for selected synaptic deficits in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 16(3), 311–4.
- Carta, M., Fièvre, S., Gorlewicz, A., and Mulle, C. (2014). Kainate receptors in the hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 39(11), 1835–44.
- Castillo, P. E., Malenka, R. C., and Nicoll, R. A. (1997a). Kainate receptors mediate a slow postsynaptic current in hippocampal CA3 neurons. *Nature*, 388(6638), 182–6.
- Castillo, P. E., Weisskopf, M. G., and Nicoll, R. a. (1994). The role of Ca²⁺ channels in hippocampal mossy fiber synaptic transmission and long-term potentiation. *Neuron*, 12(2), 261–9.
- Castillo, P., Janz, R., and Sdhof, T. (1997b). Rab3A is essential for mossy fibre long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 388(August).
- Cavaillon, J. M. (2001). Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, 47(4), 695–702.
- Chandrasekharan, N. V, Dai, H., Roos, K. L. T., Evanson, N. K., Tomsik, J., Elton, T. S., and Simmons, D. L. (2002). COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(21), 13926–31.

- Chang, E. H., Savage, M. J., Flood, D. G., Thomas, J. M., Levy, R. B., Mahadomrongkul, V., Shirao, T., Aoki, C., and Huerta, P. T. (2006). AMPA receptor downscaling at the onset of Alzheimer's disease pathology in double knockin mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(9), 3410–5.
- Chaudhry, U. a, Zhuang, H., Crain, B. J., and Doré, S. (2008). Elevated microsomal prostaglandin-E synthase-1 in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 4(1), 6–13.
- Chaudhry, U., and Dore, S. (2009). Cytosolic prostaglandin E synthase: expression patterns in control and Alzheimer's disease brains. *American Journal of Alzheimer's Disease ...*, 2(1), 1–9.
- Chaudhry, U., Zhuang, H., and Doré, S. (2010). Microsomal prostaglandin E synthase-2: cellular distribution and expression in Alzheimer's disease. *Experimental Neurology*, 223(2), 359–365.
- Chen, C., and Bazan, N. G. (2005). Endogenous PGE2 regulates membrane excitability and synaptic transmission in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, 93(2), 929–41.
- Chen, C., Magee, J., and Bazan, N. (2002). Cyclooxygenase-2 regulates prostaglandin E2 signaling in hippocampal long-term synaptic plasticity. *Journal of Neurophysiology*, 2851–2857.
- Chen, G., Chen, K. S., Knox, J., Inglis, J., Bernard, A., Martin, S. J., Justice, A., McConlogue, L., Games, D., Freedman, S. B., and Morris, R. G. (2000). A learning deficit related to age and beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature*, 408(6815), 975–9.
- Chevalleyre, V., and Castillo, P. E. (2002). Assessing the role of Ih channels in synaptic transmission and mossy fiber LTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(14), 9538–43.
- Cissé, M., Halabisky, B., Harris, J., Devidze, N., Dubal, D. B., Sun, B., Orr, A., Lotz, G., Kim, D. H., Hamto, P., Ho, K., Yu, G.-Q., and Mucke, L. (2011). Reversing EphB2 depletion rescues cognitive functions in Alzheimer model. *Nature*, 469(7328), 47–52.
- Citron, M., Oltersdorf, T., Haass, C., McConlogue, L., Hung, A. Y., Seubert, P., Vigo-Pelfrey, C., Lieberburg, I., and Selkoe, D. J. (1992). Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production. *Nature*, 360(6405), 672–4.
- Claiborne, B. J., Amaral, D. G., and Cowan, W. M. (1986). A light and electron microscopic analysis of the mossy fibers of the rat dentate gyrus. *The Journal of Comparative Neurology*, 246(4), 435–58.
- Coceani, F., and Wolfe, L. S. (1965). Prostaglandins in brain and the release of prostaglandin-like compounds from the cat cerebellar cortex. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 43, 445–50.

- Coleman, R. A., and Kennedy, I. (1985). Characterisation of the prostanoid receptors mediating contraction of guinea-pig isolated trachea. *Prostaglandins*, 29(3), 363–75.
- Coleman, R. A., Kennedy, I., and Sheldrick, R. L. (1987). New evidence with selective agonists and antagonists for the subclassification of PGE₂-sensitive (EP) receptors. *Advances in Prostaglandin, Thromboxane, and Leukotriene Research*, 17A, 467–70.
- Coleman, R. A., Smith, W. L., and Narumiya, S. (1994). International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacological Reviews*, 46(2), 205–29.
- Combrinck, M., Williams, J., De Berardinis, M. a, Warden, D., Puopolo, M., Smith, a D., and Minghetti, L. (2006). Levels of CSF prostaglandin E₂, cognitive decline, and survival in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 77(1), 85–8.
- Contractor, a, Swanson, G., and Heinemann, S. F. (2001). Kainate receptors are involved in short- and long-term plasticity at mossy fiber synapses in the hippocampus. *Neuron*, 29(1), 209–16.
- Contractor, A., Rogers, C., Maron, C., Henkemeyer, M., Swanson, G. T., and Heinemann, S. F. (2002). Trans-synaptic Eph receptor-ephrin signaling in hippocampal mossy fiber LTP. *Science (New York, N.Y.)*, 296(5574), 1864–9.
- Contractor, A., Sailer, A. W., Darstein, M., Maron, C., Xu, J., Swanson, G. T., and Heinemann, S. F. (2003). Loss of kainate receptor-mediated heterosynaptic facilitation of mossy-fiber synapses in KA2-/- mice. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(2), 422–9.
- Cook, D. G., Leverenz, J. B., McMillan, P. J., Kulstad, J. J., Ericksen, S., Roth, R. A., Schellenberg, G. D., Jin, L.-W., Kovacina, K. S., and Craft, S. (2003). Reduced hippocampal insulin-degrading enzyme in late-onset Alzheimer's disease is associated with the apolipoprotein E-epsilon4 allele. *The American Journal of Pathology*, 162(1), 313–9.
- Cooper, L. N., and Bear, M. F. (2012). The BCM theory of synapse modification at 30: interaction of theory with experiment. *Nature Reviews. Neuroscience*, 13(11), 798–810.
- Coulson, E. J., Paliga, K., Beyreuther, K., and Masters, C. L. (2000). What the evolution of the amyloid protein precursor supergene family tells us about its function. *Neurochemistry International*, 36(3), 175–84.
- Cremer, H., Chazal, G., Goridis, C., and Represa, A. (1997). NCAM is essential for axonal growth and fasciculation in the hippocampus. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 8(5), 323–35.
- Crimins, J. L., Pooler, A., Polydoro, M., Luebke, J. I., and Spires-Jones, T. L. (2013). The intersection of amyloid β and tau in glutamatergic synaptic dysfunction and collapse in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, 12(3), 757–63.

- D'Amelio, M., Cavallucci, V., Middei, S., Marchetti, C., Pacioni, S., Ferri, A., Diamantini, A., De Zio, D., Carrara, P., Battistini, L., Moreno, S., Bacci, A., Ammassari-Teule, M., Marie, H., and Cecconi, F. (2011). Caspase-3 triggers early synaptic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience*, 14(1), 69–76.
- D'Andrea, M. R., Cole, G. M., and Ard, M. D. (2004). The microglial phagocytic role with specific plaque types in the Alzheimer disease brain. *Neurobiology of Aging*, 25(5), 675–83.
- Dartigues, J. F., Gagnon, M., Michel, P., Letenneur, L., Commenges, D., Barberger-Gateau, P., Auriacombe, S., Rigal, B., Bedry, R., and Alpérovitch, A. (1991). [The Paquid research program on the epidemiology of dementia. Methods and initial results]. *Revue Neurologique*, 147(3), 225–30.
- Day, N. C., Shaw, P. J., McCormack, A. L., Craig, P. J., Smith, W., Beattie, R., Williams, T. L., Ellis, S. B., Ince, P. G., Harpold, M. M., Lodge, D., and Volsen, S. G. (1996). Distribution of alpha 1A, alpha 1B and alpha 1E voltage-dependent calcium channel subunits in the human hippocampus and parahippocampal gyrus. *Neuroscience*, 71(4), 1013–24.
- Deane, R., Du Yan, S., Subramanian, R. K., LaRue, B., Jovanovic, S., Hogg, E., Welch, D., Manness, L., Lin, C., Yu, J., Zhu, H., Ghiso, J., Frangione, B., Stern, A., Schmidt, A. M., Armstrong, D. L., Arnold, B., Liliensiek, B., Nawroth, P., Hofman, F., Kindy, M., Stern, D., and Zlokovic, B. (2003). RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nature Medicine*, 9(7), 907–13.
- Decker, H., Lo, K. Y., Unger, S. M., Ferreira, S. T., and Silverman, M. A. (2010). Amyloid-beta peptide oligomers disrupt axonal transport through an NMDA receptor-dependent mechanism that is mediated by glycogen synthase kinase 3beta in primary cultured hippocampal neurons. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(27), 9166–71.
- DeKosky, S. T., and Scheff, S. W. (1990). Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity. *Annals of Neurology*, 27(5), 457–64.
- Deng, W., Aimone, J. B., and Gage, F. H. (2010). New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature Reviews. Neuroscience*, 11(5), 339–50.
- Dinamarca, M. C., Ríos, J. A., and Inestrosa, N. C. (2012). Postsynaptic Receptors for Amyloid- β Oligomers as Mediators of Neuronal Damage in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Physiology*, 3, 464.
- Dirig, D. M., and Yaksh, T. L. (1999). In vitro prostanoid release from spinal cord following peripheral inflammation: effects of substance P, NMDA and capsaicin. *British Journal of Pharmacology*, 126(6), 1333–40.

- Dodart, J. C., Mathis, C., Saura, J., Bales, K. R., Paul, S. M., and Ungerer, A. (2000). Neuroanatomical abnormalities in behaviorally characterized APP(V717F) transgenic mice. *Neurobiology of Disease*, 7(2), 71–85.
- Doody, R. S., Massman, P., Mahurin, R., and Law, S. (1995). Positive and negative neuropsychiatric features in Alzheimer's disease. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 7(1), 54–60.
- Dougherty, J. J., Wu, J., and Nichols, R. A. (2003). Beta-amyloid regulation of presynaptic nicotinic receptors in rat hippocampus and neocortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(17), 6740–7.
- Downs, S. M., and Longo, F. J. (1983). Prostaglandins and preovulatory follicular maturation in mice. *The Journal of Experimental Zoology*, 228(1), 99–108.
- Drever, B. D., Riedel, G., and Platt, B. (2011). The cholinergic system and hippocampal plasticity. *Behavioural Brain Research*, 221(2), 505–14.
- Dubal, D. B., and Wise, P. M. (2002). Estrogen and neuroprotection: from clinical observations to molecular mechanisms. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(2), 149–61.
- DuBoff, B., Götz, J., and Feany, M. B. (2012). Tau promotes neurodegeneration via DRP1 mislocalization in vivo. *Neuron*, 75(4), 618–32.
- Dubois, B. (2009). [Update on Alzheimer's disease]. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 67(2), 116–26.
- Duff, K., Eckman, C., Zehr, C., Yu, X., Prada, C. M., Perez-tur, J., Hutton, M., Buee, L., Harigaya, Y., Yager, D., Morgan, D., Gordon, M. N., Holcomb, L., Refolo, L., Zenk, B., Hardy, J., and Yonkin, S. (1996). Increased amyloid-beta₄₂(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature*, 383(6602), 710–3.
- Echeverria, V., Clerman, A., and Doré, S. (2005). Stimulation of PGE receptors EP2 and EP4 protects cultured neurons against oxidative stress and cell death following beta-amyloid exposure. *The European Journal of Neuroscience*, 22(9), 2199–206.
- Eikelenboom, P., Zhan, S. S., van Gool, W. A., and Allsop, D. (1994). Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 15(12), 447–50.
- Ek, M., Arias, C., Sawchenko, P., and Ericsson-Dahlstrand, a. (2000). Distribution of the EP3 prostaglandin E(2) receptor subtype in the rat brain: relationship to sites of interleukin-1-induced cellular responsiveness. *The Journal of Comparative Neurology*, 428(1), 5–20.
- Elmqvist, J. K., Breder, C. D., Sherin, J. E., Scammell, T. E., Hickey, W. F., Dewitt, D., and Saper, C. B. (1997). Intravenous lipopolysaccharide induces cyclooxygenase 2-like immunoreactivity in rat brain perivascular microglia and meningeal macrophages. *The Journal of Comparative Neurology*, 381(2), 119–29.

- Engblom, D., Ek, M., Ericsson-Dahlstrand, A., and Blomqvist, A. (2001). Activation of prostanoid EP(3) and EP(4) receptor mRNA-expressing neurons in the rat parabrachial nucleus by intravenous injection of bacterial wall lipopolysaccharide. *The Journal of Comparative Neurology*, 440(4), 378–86.
- Exner, H. J., and Schlicker, E. (1995). Prostanoid receptors of the EP3 subtype mediate the inhibitory effect of prostaglandin E2 on noradrenaline release in the mouse brain cortex. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 351(1), 46–52.
- Farrer, L. A., Cupples, L. A., Haines, J. L., Hyman, B., Kukull, W. A., Mayeux, R., Myers, R. H., Pericak-Vance, M. A., Risch, N., and van Duijn, C. M. (1997). Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 278(16), 1349–56.
- Fernandes, H. B., Catches, J. S., Petralia, R. S., Copits, B. A., Xu, J., Russell, T. A., Swanson, G. T., and Contractor, A. (2009). High-affinity kainate receptor subunits are necessary for ionotropic but not metabotropic signaling. *Neuron*, 63(6), 818–29.
- Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jorm, A., Mathers, C., Menezes, P. R., Rimmer, E., and Scazufca, M. (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet*, 366(9503), 2112–7.
- Fiala, M., Lin, J., Ringman, J., Kermani-Arab, V., Tsao, G., Patel, A., Lossinsky, A. S., Graves, M. C., Gustavson, A., Sayre, J., Sofroni, E., Suarez, T., Chiappelli, F., and Bernard, G. (2005). Ineffective phagocytosis of amyloid-beta by macrophages of Alzheimer's disease patients. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 7(3), 221–32; discussion 255–62.
- Filali, M., and Lalonde, R. (2009). Age-related cognitive decline and nesting behavior in an APPswe/PS1 genic model of Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1292, 93–9.
- Fitzjohn, S. M., Kuenzi, F., Morton, R. A., Rosahl, T. W., Lewis, H., Smith, D., Seabrook, G. R., and Collingridge, G. L. (2010). A study of long-term potentiation in transgenic mice over-expressing mutant forms of both amyloid precursor protein and presenilin-1. *Molecular Brain*, 3(1), 21.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., and McHugh, P. R. (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3), 189–98.
- Förstl, H., and Kurz, A. (1999). Clinical features of Alzheimer's disease. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 249(6), 288–90.
- Frackowiak, J., Wisniewski, H. M., Wegiel, J., Merz, G. S., Iqbal, K., and Wang, K. C. (1992). Ultrastructure of the microglia that phagocytose amyloid and the microglia that produce beta-amyloid fibrils. *Acta Neuropathologica*, 84(3), 225–33.

- Frotscher, M., Seress, L., Schwerdtfeger, W. K., and Buhl, E. (1991). The mossy cells of the fascia dentata: a comparative study of their fine structure and synaptic connections in rodents and primates. *The Journal of Comparative Neurology*, 312(1), 145–63.
- Frotscher, M., Soriano, E., and Misgeld, U. (1994). Divergence of hippocampal mossy fibers. *Synapse (New York, N.Y.)*, 16(2), 148–60.
- Funk, C. D., Furci, L., FitzGerald, G. A., Grygorczyk, R., Rochette, C., Bayne, M. A., Abramovitz, M., Adam, M., and Metters, K. M. (1993). Cloning and expression of a cDNA for the human prostaglandin E receptor EP1 subtype. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(35), 26767–72.
- Games, D., Adams, D., Alessandrini, R., Barbour, R., Berthelette, P., Blackwell, C., Carr, T., Clemens, J., Donaldson, T., and Gillespie, F. (1995). Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. *Nature*, 373(6514), 523–7.
- Gardiner, P. J. (1986). Characterization of prostanoid relaxant/inhibitory receptors (psi) using a highly selective agonist, TR4979. *British Journal of Pharmacology*, 87(1), 45–56.
- Gengler, S., Hamilton, A., and Hölscher, C. (2010). Synaptic plasticity in the hippocampus of a APP/PS1 mouse model of Alzheimer’s disease is impaired in old but not young mice. *PLoS One*, 5(3), e9764.
- Gerozissis, K., Saavedra, J. M., and Dray, F. (1983). Prostanoid profile in specific brain areas, pituitary and pineal gland of the male rat. Influence of experimental conditions. *Brain Research*, 279(1-2), 133–9.
- Gibbons, H. M., and Dragunow, M. (2006). Microglia induce neural cell death via a proximity-dependent mechanism involving nitric oxide. *Brain Research*, 1084(1), 1–15.
- Gilley, J., Seereeram, A., Ando, K., Mosely, S., Andrews, S., Kerschensteiner, M., Misgeld, T., Brion, J.-P., Anderton, B., Hanger, D. P., and Coleman, M. P. (2012). Age-dependent axonal transport and locomotor changes and tau hypophosphorylation in a “P301L” tau knockin mouse. *Neurobiology of Aging*, 33(3), 621.e1–621.e15.
- Ginhoux, F., Greter, M., Leboeuf, M., Nandi, S., See, P., Gokhan, S., Mehler, M. F., Conway, S. J., Ng, L. G., Stanley, E. R., Samokhvalov, I. M., and Merad, M. (2010). Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science (New York, N.Y.)*, 330(6005), 841–5.
- Giuffrida, M. L., Caraci, F., Pignataro, B., Cataldo, S., De Bona, P., Bruno, V., Molinaro, G., Pappalardo, G., Messina, A., Palmigiano, A., Garozzo, D., Nicoletti, F., Rizzarelli, E., and Copani, A. (2009). Beta-amyloid monomers are neuroprotective. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(34), 10582–7.
- Glenner, G. G., Wong, C. W., Quaranta, V., and Eanes, E. D. (1984). The amyloid deposits in Alzheimer’s disease: their nature and pathogenesis. *Applied Pathology*, 2(6), 357–69.

- Goate, A., Chartier-Harlin, M. C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., and James, L. (1987). Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 349(6311), 704–6.
- Gong, B., Vitolo, O. V., Trinchese, F., Liu, S., Shelanski, M., and Arancio, O. (2004). Persistent improvement in synaptic and cognitive functions in an Alzheimer mouse model after rolipram treatment. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(11), 1624–34.
- Gonzales, R. B., DeLeon Galvan, C. J., Rangel, Y. M., and Claiborne, B. J. (2001). Distribution of thorny excrescences on CA3 pyramidal neurons in the rat hippocampus. *The Journal of Comparative Neurology*, 430(3), 357–68.
- Gottlieb, D. I., and Cowan, W. M. (1973). Autoradiographic studies of the commissural and ipsilateral association connection of the hippocampus and dentate gyrus of the rat. I. The commissural connections. *The Journal of Comparative Neurology*, 149(4), 393–422.
- Gravina, S. A., Ho, L., Eckman, C. B., Long, K. E., Otvos, L., Younkin, L. H., Suzuki, N., and Younkin, S. G. (1995). Amyloid beta protein (A beta) in Alzheimer's disease brain. Biochemical and immunocytochemical analysis with antibodies specific for forms ending at A beta 40 or A beta 42(43). *The Journal of Biological Chemistry*, 270(13), 7013–6.
- Gray, S. J., and Heptinstall, S. (1991). Interactions between prostaglandin E2 and inhibitors of platelet aggregation which act through cyclic AMP. *European Journal of Pharmacology*, 194(1), 63–70.
- Grbovic, O. M., Mathews, P. M., Jiang, Y., Schmidt, S. D., Dinakar, R., Summers-Terio, N. B., Ceresa, B. P., Nixon, R. A., and Cataldo, A. M. (2003). Rab5-stimulated up-regulation of the endocytic pathway increases intracellular beta-cleaved amyloid precursor protein carboxyl-terminal fragment levels and Aβ production. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(33), 31261–8.
- Green, R. C., Cupples, L. A., Go, R., Benke, K. S., Edeki, T., Griffith, P. A., Williams, M., Hipps, Y., Graff-Radford, N., Bachman, D., and Farrer, L. A. (2002). Risk of dementia among white and African American relatives of patients with Alzheimer disease. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 287(3), 329–36.
- Griffin, W. S., Sheng, J. G., Royston, M. C., Gentleman, S. M., McKenzie, J. E., Graham, D. I., Roberts, G. W., and Mrak, R. E. (1998). Glial-neuronal interactions in Alzheimer's disease: the potential role of a “cytokine cycle” in disease progression. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 8(1), 65–72.
- Grober, E., Hall, C. B., Lipton, R. B., Zonderman, A. B., Resnick, S. M., and Kawas, C. (2008). Memory impairment, executive dysfunction, and intellectual decline in preclinical Alzheimer's disease. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS*, 14(2), 266–78.
- Gu, Y., Misonou, H., Sato, T., Dohmae, N., Takio, K., and Ihara, Y. (2001). Distinct intramembrane cleavage of the beta-amyloid precursor protein family resembling

- gamma-secretase-like cleavage of Notch. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(38), 35235–8.
- Gunawardena, S., and Goldstein, L. S. (2001). Disruption of axonal transport and neuronal viability by amyloid precursor protein mutations in *Drosophila*. *Neuron*, 32(3), 389–401.
- Günther, J., Schulte, K., Wenzel, D., Malinowska, B., and Schlicker, E. (2010). Prostaglandins of the E series inhibit monoamine release via EP3 receptors: proof with the competitive EP3 receptor antagonist L-826,266. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 381(1), 21–31.
- Gureviciene, I., Ikonen, S., Gurevicius, K., Sarkaki, A., van Groen, T., Pussinen, R., Ylinen, A., and Tanila, H. (2004). Normal induction but accelerated decay of LTP in APP + PS1 transgenic mice. *Neurobiology of Disease*, 15(2), 188–95.
- Haass, C. (2004). Take five--BACE and the gamma-secretase quartet conduct Alzheimer's amyloid beta-peptide generation. *The EMBO Journal*, 23(3), 483–8.
- Haass, C., Hung, A. Y., Schlossmacher, M. G., Teplow, D. B., and Selkoe, D. J. (1993). beta-Amyloid peptide and a 3-kDa fragment are derived by distinct cellular mechanisms. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(5), 3021–4.
- Haberl, M. G., Viana da Silva, S., Guest, J. M., Ginger, M., Ghanem, A., Mulle, C., Oberlaender, M., Conzelmann, K.-K., and Frick, A. (2014). An anterograde rabies virus vector for high-resolution large-scale reconstruction of 3D neuron morphology. *Brain Structure & Function*.
- Hagena, H., and Manahan-Vaughan, D. (2012). Learning-facilitated long-term depression and long-term potentiation at mossy fiber-CA3 synapses requires activation of β -adrenergic receptors. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 6(May), 23.
- Harris, E. W., and Cotman, C. W. (1986). Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by N-methyl D-aspartate antagonists. *Neuroscience Letters*, 70(1), 132–7.
- Harris, E. W., Ganong, A. H., and Cotman, C. W. (1984). Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Research*, 323(1), 132–7.
- Harris, J. A., Devidze, N., Halabisky, B., Lo, I., Thwin, M. T., Yu, G.-Q., Bredesen, D. E., Masliah, E., and Mucke, L. (2010). Many neuronal and behavioral impairments in transgenic mouse models of Alzheimer's disease are independent of caspase cleavage of the amyloid precursor protein. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(1), 372–81.
- Harris, K. M., and Sultan, P. (1995). Variation in the number, location and size of synaptic vesicles provides an anatomical basis for the nonuniform probability of release at hippocampal CA1 synapses. *Neuropharmacology*, 34(11), 1387–95.

- Hata, A. N., and Breyer, R. M. (2004). Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation. *Pharmacology & Therapeutics*, 103(2), 147–66.
- Hebert, L., Weuve, J., Scherr, P., and Evans, D. (2003). Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 census. *Neurology*, 60, 5–8.
- Hein, A. M., Stutzman, D. L., Bland, S. T., Barrientos, R. M., Watkins, L. R., Rudy, J. W., and Maier, S. F. (2007). Prostaglandins are necessary and sufficient to induce contextual fear learning impairments after interleukin-1 beta injections into the dorsal hippocampus. *Neuroscience*, 150(4), 754–63.
- Heneka, M., and Obanion, M. (2007). Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology*, 184(1-2), 69–91.
- Henneberg, N., and Hoyer, S. (1995). Desensitization of the neuronal insulin receptor: a new approach in the etiopathogenesis of late-onset sporadic dementia of the Alzheimer type (SDAT)? *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 21(1), 63–74.
- Henze, D. a, Wittner, L., and Buzsáki, G. (2002). Single granule cells reliably discharge targets in the hippocampal CA3 network in vivo. *Nature Neuroscience*, 5(8), 790–5.
- Henze, D., Urban, N., and Barrionuevo, G. (2000). The multifarious hippocampal mossy fiber pathway: a review. *Neuroscience*, 98(3), 407–427.
- Hirst, W. D., Stean, T. O., Rogers, D. C., Sunter, D., Pugh, P., Moss, S. F., Bromidge, S. M., Riley, G., Smith, D. R., Bartlett, S., Heidbreder, C. A., Atkins, A. R., Lacroix, L. P., Dawson, L. A., Foley, A. G., Regan, C. M., and Upton, N. (2006). SB-399885 is a potent, selective 5-HT₆ receptor antagonist with cognitive enhancing properties in aged rat water maze and novel object recognition models. *European Journal of Pharmacology*, 553(1-3), 109–19.
- Holth, J. K., Bomben, V. C., Reed, J. G., Inoue, T., Younkin, L., Younkin, S. G., Pautler, R. G., Botas, J., and Noebels, J. L. (2013). Tau loss attenuates neuronal network hyperexcitability in mouse and Drosophila genetic models of epilepsy. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(4), 1651–9.
- Honda, A., Sugimoto, Y., Namba, T., Watabe, A., Irie, A., Negishi, M., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1993). Cloning and expression of a cDNA for mouse prostaglandin E receptor EP2 subtype. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(11), 7759–62.
- Honda, T., Sakisaka, T., Yamada, T., Kumazawa, N., Hoshino, T., Kajita, M., Kayahara, T., Ishizaki, H., Tanaka-Okamoto, M., Mizoguchi, A., Manabe, T., Miyoshi, J., and Takai, Y. (2006). Involvement of nectins in the formation of puncta adherentia junctions and the mossy fiber trajectory in the mouse hippocampus. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 31(2), 315–25.
- Hopkins, W. F., and Johnston, D. (1984). Frequency-dependent noradrenergic modulation of long-term potentiation in the hippocampus. *Science (New York, N.Y.)*, 226(4672), 350–2.

- Hopkins, W. F., and Johnston, D. (1988). Noradrenergic enhancement of long-term potentiation at mossy fiber synapses in the hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 59(2), 667–87.
- Hoshino, T., Nakaya, T., Homan, T., Tanaka, K., Sugimoto, Y., Araki, W., Narita, M., Narumiya, S., Suzuki, T., and Mizushima, T. (2007). Involvement of prostaglandin E2 in production of amyloid-beta peptides both in vitro and in vivo. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(45), 32676–88.
- Howlett, D. R., Richardson, J. C., Austin, A., Parsons, A. A., Bate, S. T., Davies, D. C., and Gonzalez, M. I. (2004). Cognitive correlates of Abeta deposition in male and female mice bearing amyloid precursor protein and presenilin-1 mutant transgenes. *Brain Research*, 1017(1-2), 130–6.
- Hoyer, S., Müller, D., and Plaschke, K. (1994). Desensitization of brain insulin receptor. Effect on glucose/energy and related metabolism. *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, 44, 259–68.
- Hsiao, K., Chapman, P., Nilsen, S., Eckman, C., Harigaya, Y., Younkin, S., Yang, F., and Cole, G. (1996). Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science (New York, N.Y.)*, 274(5284), 99–102.
- Hsieh, H., Boehm, J., Sato, C., Iwatsubo, T., Tomita, T., Sisodia, S., and Malinow, R. (2006). AMPAR removal underlies Abeta-induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron*, 52(5), 831–43.
- Huang, Y. Y., and Kandel, E. R. (1996). Modulation of both the early and the late phase of mossy fiber LTP by the activation of beta-adrenergic receptors. *Neuron*, 16(3), 611–7.
- Hüll, M., Müksch, B., Akundi, R. S., Waschbisch, A., Hoozemans, J. J. M., Veerhuis, R., and Fiebich, B. L. (2006). Amyloid beta peptide (25-35) activates protein kinase C leading to cyclooxygenase-2 induction and prostaglandin E2 release in primary midbrain astrocytes. *Neurochemistry International*, 48(8), 663–72.
- Hussain, I., Powell, D., Howlett, D. R., Tew, D. G., Meek, T. D., Chapman, C., Gloger, I. S., Murphy, K. E., Southan, C. D., Ryan, D. M., Smith, T. S., Simmons, D. L., Walsh, F. S., Dingwall, C., and Christie, G. (1999). Identification of a novel aspartic protease (Asp 2) as beta-secretase. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 14(6), 419–27.
- Ibrahim, N., Shibuya, I., Kabashima, N., Sutarmo, S. V., Ueta, Y., and Yamashita, H. (1999). Prostaglandin E2 inhibits spontaneous inhibitory postsynaptic currents in rat supraoptic neurones via presynaptic EP receptors. *Journal of Neuroendocrinology*, 11(11), 879–86.
- Ikeda-Matsuo, Y., Ikegaya, Y., Matsuki, N., Uematsu, S., Akira, S., and Sasaki, Y. (2005). Microglia-specific expression of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 contributes to lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 production. *Journal of Neurochemistry*, 94(6), 1546–58.

- in t' Veld, B. A., Ruitenbergh, A., Hofman, A., Launer, L. J., van Duijn, C. M., Stijnen, T., Breteler, M. M., and Stricker, B. H. (2001). Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 345(21), 1515–21.
- Irie, A., Segi, E., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., and Negishi, M. (1994). Mouse prostaglandin E receptor EP3 subtype mediates calcium signals via Gi in cDNA-transfected Chinese hamster ovary cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 204(1), 303–9.
- Irie, A., Sugimoto, Y., Namba, T., Harazono, A., Honda, A., Watabe, A., Negishi, M., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1993). Third isoform of the prostaglandin-E-receptor EP3 subtype with different C-terminal tail coupling to both stimulation and inhibition of adenylate cyclase. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 217(1), 313–8.
- Ishizuka, K., Kimura, T., Igata-yi, R., Katsuragi, S., Takamatsu, J., and Miyakawa, T. (1997). Identification of monocyte chemoattractant protein-1 in senile plaques and reactive microglia of Alzheimer's disease. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 51(3), 135–8.
- Ittner, L. M., Ke, Y. D., Delerue, F., Bi, M., Gladbach, A., van Eersel, J., Wölfling, H., Chieng, B. C., Christie, M. J., Napier, I. A., Eckert, A., Staufenbiel, M., Hardeman, E., and Götz, J. (2010). Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell*, 142(3), 387–97.
- Ivanov, A. I., and Romanovsky, A. A. (2004). Prostaglandin E2 as a mediator of fever: synthesis and catabolism. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 9, 1977–93.
- Jahn, R., Lang, T., and Südhof, T. C. (2003). Membrane fusion. *Cell*, 112(4), 519–33.
- Jakobsson, P. J., Thorén, S., Morgenstern, R., and Samuelsson, B. (1999). Identification of human prostaglandin E synthase: a microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(13), 7220–5.
- Jankowsky, J. L., Fadale, D. J., Anderson, J., Xu, G. M., Gonzales, V., Jenkins, N. a, Copeland, N. G., Lee, M. K., Younkin, L. H., Wagner, S. L., Younkin, S. G., and Borchelt, D. R. (2004). Mutant presenilins specifically elevate the levels of the 42 residue beta-amyloid peptide in vivo: evidence for augmentation of a 42-specific gamma secretase. *Human Molecular Genetics*, 13(2), 159–70.
- Jankowsky, J. L., Melnikova, T., Fadale, D. J., Xu, G. M., Slunt, H. H., Gonzales, V., Younkin, L. H., Younkin, S. G., Borchelt, D. R., and Savonenko, A. V. (2005). Environmental enrichment mitigates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(21), 5217–24.
- Jankowsky, J. L., Slunt, H. H., Ratovitski, T., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., and Borchelt, D. R. (2001). Co-expression of multiple transgenes in mouse CNS: a comparison of strategies. *Biomolecular Engineering*, 17(6), 157–65.

- Jiang, H., Hampel, H., Prvulovic, D., Wallin, A., Blennow, K., Li, R., and Shen, Y. (2011). Elevated CSF levels of TACE activity and soluble TNF receptors in subjects with mild cognitive impairment and patients with Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 6, 69.
- Johnson, J. W., and Ascher, P. (1987). Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature*, 325(6104), 529–31.
- Jonas, P., and Burnashev, N. (1995). Molecular mechanisms controlling calcium entry through AMPA-type glutamate receptor channels. *Neuron*, 15(5), 987–90.
- Jung, J. H., An, K., Kwon, O. Bin, Kim, H., and Kim, J.-H. (2011). Pathway-specific alteration of synaptic plasticity in Tg2576 mice. *Molecules and Cells*, 32(2), 197–201.
- Jung, M. W., and McNaughton, B. L. (1993). Spatial selectivity of unit activity in the hippocampal granular layer. *Hippocampus*, 3(2), 165–82.
- Kaesler-Woo, Y. J., Younts, T. J., Yang, X., Zhou, P., Wu, D., Castillo, P. E., and Südhof, T. C. (2013). Synaptotagmin-12 phosphorylation by cAMP-dependent protein kinase is essential for hippocampal mossy fiber LTP. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(23), 9769–80.
- Kakegawa, W., Tsuzuki, K., Yoshida, Y., Kameyama, K., and Ozawa, S. (2004). Input- and subunit-specific AMPA receptor trafficking underlying long-term potentiation at hippocampal CA3 synapses. *The European Journal of Neuroscience*, 20(1), 101–10.
- Kamal, A., Almenar-Queralt, A., LeBlanc, J. F., Roberts, E. A., and Goldstein, L. S. (2001). Kinesin-mediated axonal transport of a membrane compartment containing beta-secretase and presenilin-1 requires APP. *Nature*, 414(6864), 643–8.
- Kamenetz, F., Tomita, T., Hsieh, H., Seabrook, G., Borchelt, D., Iwatsubo, T., Sisodia, S., and Malinow, R. (2003). APP processing and synaptic function. *Neuron*, 37(6), 925–37.
- Kamiya, H., Shinozaki, H., and Yamamoto, C. (1996). Activation of metabotropic glutamate receptor type 2/3 suppresses transmission at rat hippocampal mossy fibre synapses. *The Journal of Physiology*, 493 (Pt 2, 447–55.
- Kang, J., Lemaire, H. G., Unterbeck, A., Salbaum, J. M., Masters, C. L., Grzeschik, K. H., Multhaup, G., Beyreuther, K., and Müller-Hill, B. (1987). The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, 325(6106), 733–6.
- Karran, E., Mercken, M., and De Strooper, B. (2011). The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 10(9), 698–712.
- Katz, S., Ford, A. B., Moskowitz, R. W., Jackson, B. A., and Jaffe, M. W. (1963). Studies of the illness in the aged. The index of ADL: a standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 185, 914–9.

- Kennedy, C. R., Zhang, Y., Brandon, S., Guan, Y., Coffee, K., Funk, C. D., Magnuson, M. a, Oates, J. a, Breyer, M. D., and Breyer, R. M. (1999). Salt-sensitive hypertension and reduced fertility in mice lacking the prostaglandin EP2 receptor. *Nature Medicine*, 5(2), 217–20.
- Kessels, H. W., Nguyen, L. N., Nabavi, S., and Malinow, R. (2010). The prion protein as a receptor for amyloid-beta. *Nature*, 466(7308), E3–4; discussion E4–5.
- Kettenmann, H., and Verkhratsky, A. (2008). Neuroglia: the 150 years after. *Trends in Neurosciences*, 31(12), 653–9.
- Kilgore, M., Miller, C. a, Fass, D. M., Hennig, K. M., Haggarty, S. J., Sweatt, J. D., and Rumbaugh, G. (2010). Inhibitors of class 1 histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer’s disease. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(4), 870–80.
- Kim, J., Basak, J. M., and Holtzman, D. M. (2009). The role of apolipoprotein E in Alzheimer’s disease. *Neuron*, 63(3), 287–303.
- King, M. V, Marsden, C. A., and Fone, K. C. F. (2008). A role for the 5-HT(1A), 5-HT4 and 5-HT6 receptors in learning and memory. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(9), 482–92.
- Kis, B., Snipes, J. A., and Busija, D. W. (2005). Acetaminophen and the cyclooxygenase-3 puzzle: sorting out facts, fictions, and uncertainties. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(1), 1–7.
- Kitanaka, J., Hashimoto, H., Gotoh, M., Kondo, K., Sakata, K., Hirasawa, Y., Sawada, M., Suzumura, A., Marunouchi, T., Matsuda, T., and Baba, A. (1996). Expression pattern of messenger RNAs for prostanoid receptors in glial cell cultures. *Brain Research*, 707(2), 282–7.
- Kivipelto, M., Ngandu, T., Fratiglioni, L., Viitanen, M., Kåreholt, I., Winblad, B., Helkala, E.-L., Tuomilehto, J., Soininen, H., and Nissinen, A. (2005). Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 62(10), 1556–60.
- Kleckner, N. W., and Dingledine, R. (1988). Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Science (New York, N.Y.)*, 241(4867), 835–7.
- Knobloch, M., Farinelli, M., Konietzko, U., Nitsch, R. M., and Mansuy, I. M. (2007). Abeta oligomer-mediated long-term potentiation impairment involves protein phosphatase 1-dependent mechanisms. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(29), 7648–53.
- Kobayashi, K., Manabe, T., and Takahashi, T. (1996). Presynaptic long-term depression at the hippocampal mossy fiber-CA3 synapse. *Science (New York, N.Y.)*, 273(5275), 648–50.

- Kobayashi, K., Manabe, T., and Takahashi, T. (1999). Calcium-dependent mechanisms involved in presynaptic long-term depression at the hippocampal mossy fibre-CA3 synapse. *The European Journal of Neuroscience*, 11(5), 1633–8.
- Koffie, R. M., Meyer-Luehmann, M., Hashimoto, T., Adams, K. W., Mielke, M. L., Garcia-Alloza, M., Micheva, K. D., Smith, S. J., Kim, M. L., Lee, V. M., Hyman, B. T., and Spires-Jones, T. L. (2009). Oligomeric amyloid beta associates with postsynaptic densities and correlates with excitatory synapse loss near senile plaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(10), 4012–7.
- Koistinaho, M., Lin, S., Wu, X., Esterman, M., Koger, D., Hanson, J., Higgs, R., Liu, F., Malkani, S., Bales, K. R., and Paul, S. M. (2004). Apolipoprotein E promotes astrocyte colocalization and degradation of deposited amyloid- β peptides. *Nature Medicine*, 10(7), 719–726.
- Kujubu, D. A., Fletcher, B. S., Varnum, B. C., Lim, R. W., and Herschman, H. R. (1991). TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *The Journal of Biological Chemistry*, 266(20), 12866–72.
- Laaris, N., and Weinreich, D. (2007). Prostaglandin E2 depresses solitary tract-mediated synaptic transmission in the nucleus tractus solitarius. *Neuroscience*, 146(2), 792–801.
- Lacroix, S., and Rivest, S. (1998). Effect of acute systemic inflammatory response and cytokines on the transcription of the genes encoding cyclooxygenase enzymes (COX-1 and COX-2) in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 70(2), 452–66.
- Lacroix, S., Vallières, L., and Rivest, S. (1996). C-fos mRNA pattern and corticotropin-releasing factor neuronal activity throughout the brain of rats injected centrally with a prostaglandin of E2 type. *Journal of Neuroimmunology*, 70(2), 163–79.
- Lambert, J. C., Ibrahim-Verbaas, C. A., Harold, D., Naj, A. C., Sims, R., Bellenguez, C., DeStafano, A. L., Bis, J. C., Beecham, G. W., Grenier-Boley, B., Russo, G., Thorton-Wells, T. A., Jones, N., Smith, A. V., Chouraki, V., Thomas, C., Ikram, M. A., Zelenika, D., Vardarajan, B. N., Kamatani, Y., Lin, C. F., Gerrish, A., Schmidt, H.,..., Schellenberg, G. D., and Amouyel, P. (2013). Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 45(12), 1452–8.
- Lambert, J.-C., and Amouyel, P. (2007). Genetic heterogeneity of Alzheimer's disease: complexity and advances. *Psychoneuroendocrinology*, 32 Suppl 1, S62–70.
- Lambert, M. P., Barlow, A. K., Chromy, B. A., Edwards, C., Freed, R., Liosatos, M., Morgan, T. E., Rozovsky, I., Trommer, B., Viola, K. L., Wals, P., Zhang, C., Finch, C. E., Krafft, G. A., and Klein, W. L. (1998). Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(11), 6448–53.

- Larson, E. B., Shadlen, M.-F., Wang, L., McCormick, W. C., Bowen, J. D., Teri, L., and Kukull, W. A. (2004). Survival after initial diagnosis of Alzheimer disease. *Annals of Internal Medicine*, 140(7), 501–9.
- Lauri, S., Bortolotto, Z. a, Nistico, R., Isaac, J. T. ., and Collingridge, G. L. (2003). A Role for Ca²⁺ Stores in Kainate Receptor-Dependent Synaptic Facilitation and LTP at Mossy Fiber Synapses in the Hippocampus. *Neuron*, 39(2), 327–341.
- Lauri, S. E., Bortolotto, Z. A., Bleakman, D., Ornstein, P. L., Lodge, D., Isaac, J. T., and Collingridge, G. L. (2001). A critical role of a facilitatory presynaptic kainate receptor in mossy fiber LTP. *Neuron*, 32(4), 697–709.
- Leboucher, A., Laurent, C., Fernandez-Gomez, F.-J., Burnouf, S., Troquier, L., Eddarkaoui, S., Demeyer, D., Caillierez, R., Zommer, N., Vallez, E., Bantubungi, K., Breton, C., Pigny, P., Buée-Scherrer, V., Staels, B., Hamdane, M., Tailleux, A., Buée, L., and Blum, D. (2013). Detrimental effects of diet-induced obesity on τ pathology are independent of insulin resistance in τ transgenic mice. *Diabetes*, 62(5), 1681–8.
- Lee, D., and Landreth, G. E. (2010). The role of microglia in amyloid clearance from the AD brain. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 117(8), 949–60.
- Lee, E. O., Shin, Y. J., and Chong, Y. H. (2004). Mechanisms involved in prostaglandin E₂-mediated neuroprotection against TNF- α : possible involvement of multiple signal transduction and beta-catenin/T-cell factor. *Journal of Neuroimmunology*, 155(1-2), 21–31.
- Lee, S. H., Kim, K.-R., Ryu, S.-Y., Son, S., Hong, H. S., Mook-Jung, I., Lee, S.-H., and Ho, W.-K. (2012). Impaired Short-Term Plasticity in Mossy Fiber Synapses Caused by Mitochondrial Dysfunction of Dentate Granule Cells Is the Earliest Synaptic Deficit in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *Journal of Neuroscience*, 32(17), 5953–5963.
- Lehmann, J. M., Lenhard, J. M., Oliver, B. B., Ringold, G. M., and Kliewer, S. A. (1997). Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(6), 3406–10.
- Lei, S., and McBain, C. J. (2002). Distinct NMDA receptors provide differential modes of transmission at mossy fiber-interneuron synapses. *Neuron*, 33(6), 921–33.
- LeMay, L. G., Vander, A. J., and Kluger, M. J. (1990). Role of interleukin 6 in fever in rats. *The American Journal of Physiology*, 258(3 Pt 2), R798–803.
- Leoutsakos, J., and Muthen, B. (2012). Effects of NSAID treatments on cognitive decline vary by phase of pre-clinical Alzheimer disease: Findings from the randomized controlled ADAPT trial. ... *Journal of Geriatric ...*, 27(January 2005), 364–374.
- Levy-Lahad, E., Wasco, W., Poorkaj, P., Romano, D. M., Oshima, J., Pettingell, W. H., Yu, C. E., Jondro, P. D., Schmidt, S. D., and Wang, K. (1995). Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer’s disease locus. *Science (New York, N.Y.)*, 269(5226), 973–7.

- Lewis, J., Dickson, D. W., Lin, W. L., Chisholm, L., Corral, A., Jones, G., Yen, S. H., Sahara, N., Skipper, L., Yager, D., Eckman, C., Hardy, J., Hutton, M., and McGowan, E. (2001). Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science (New York, N.Y.)*, 293(5534), 1487–91.
- Li, L., Bischofberger, J., and Jonas, P. (2007). Differential gating and recruitment of P/Q-, N-, and R-type Ca²⁺ channels in hippocampal mossy fiber boutons. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(49), 13420–9.
- Li, S., Ballou, L. R., Morham, S. G., and Blatteis, C. M. (2001). Cyclooxygenase-2 mediates the febrile response of mice to interleukin-1beta. *Brain Research*, 910(1-2), 163–73.
- Li, S., Hong, S., Shepardson, N. E., Walsh, D. M., Shankar, G. M., and Selkoe, D. (2009). Soluble oligomers of amyloid Beta protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron*, 62(6), 788–801.
- Li, S., Jin, M., Koeglsperger, T., Shepardson, N. E., Shankar, G. M., and Selkoe, D. J. (2011). Soluble Aβ oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(18), 6627–38.
- Li, X., Okada, Y., Pilbeam, C. C., Lorenzo, J. a, Kennedy, C. R., Breyer, R. M., and Raisz, L. G. (2000). Knockout of the murine prostaglandin EP2 receptor impairs osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*, 141(6), 2054–61.
- Liang, X., Wang, Q., Hand, T., Wu, L., Breyer, R. M., Montine, T. J., and Andreasson, K. (2005). Deletion of the prostaglandin E2 EP2 receptor reduces oxidative damage and amyloid burden in a model of Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(44), 10180–7.
- Lilja, A. M., Porras, O., Storelli, E., Nordberg, A., and Marutle, A. (2011). Functional interactions of fibrillar and oligomeric amyloid-β with alpha7 nicotinic receptors in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 23(2), 335–47.
- Lim, G. P., Yang, F., Chu, T., Chen, P., Beech, W., Teter, B., Tran, T., Ubeda, O., Ashe, K. H., Frautschy, S. A., and Cole, G. M. (2000). Ibuprofen Suppresses Plaque Pathology and Inflammation in a Mouse Model for Alzheimer ' s Disease, 20(15), 5709–5714.
- Lindberg, C., Hjorth, E., Post, C., Winblad, B., and Schultzberg, M. (2005). Cytokine production by a human microglial cell line: effects of beta-amyloid and alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Neurotoxicity Research*, 8(3-4), 267–76.
- Lindsay, J., Laurin, D., Verreault, R., Hébert, R., Helliwell, B., Hill, G. B., and McDowell, I. (2002). Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. *American Journal of Epidemiology*, 156(5), 445–53.
- Lu, J., Xing, J., and Li, J. (2007). Prostaglandin E2 (PGE2) inhibits glutamatergic synaptic transmission in dorsolateral periaqueductal gray (dl-PAG). *Brain Research*, 1162, 38–47.

- Lue, L. F., Rydel, R., Brigham, E. F., Yang, L. B., Hampel, H., Murphy, G. M., Brachova, L., Yan, S. D., Walker, D. G., Shen, Y., and Rogers, J. (2001). Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro. *Glia*, 35(1), 72–9.
- Lujan, R., Nusser, Z., Roberts, J. D., Shigemoto, R., and Somogyi, P. (1996). Perisynaptic location of metabotropic glutamate receptors mGluR1 and mGluR5 on dendrites and dendritic spines in the rat hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 8(7), 1488–500.
- Lyketsos, C. G., Breitner, J. C., Green, R. C., Martin, B. K., Meinert, C., Piantadosi, S., and Sabbagh, M. (2007). Naproxen and celecoxib do not prevent AD in early results from a randomized controlled trial. *Neurology*, 68(21), 1800–8.
- Ma, H., Hara, a., Xiao, C. Y., Okada, Y., Takahata, O., Nakaya, K., Sugimoto, Y., Ichikawa, a., Narumiya, S., and Ushikubi, F. (2001). Increased Bleeding Tendency and Decreased Susceptibility to Thromboembolism in Mice Lacking the Prostaglandin E Receptor Subtype EP3. *Circulation*, 104(10), 1176–1180.
- Ma, Q.-L., Zuo, X., Yang, F., Ubeda, O. J., Gant, D. J., Alaverdyan, M., Teng, E., Hu, S., Chen, P.-P., Maiti, P., Teter, B., Cole, G. M., and Frautschy, S. A. (2013). Curcumin suppresses soluble tau dimers and corrects molecular chaperone, synaptic, and behavioral deficits in aged human tau transgenic mice. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(6), 4056–65.
- Majima, T., Ogita, H., Yamada, T., Amano, H., Togashi, H., Sakisaka, T., Tanaka-Okamoto, M., Ishizaki, H., Miyoshi, J., and Takai, Y. (2009). Involvement of afadin in the formation and remodeling of synapses in the hippocampus. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 385(4), 539–44.
- Mandelkow, E.-M., Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., and Mandelkow, E. (2003). Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiology of Aging*, 24(8), 1079–85.
- Marchetti, C., and Marie, H. (2011). Hippocampal synaptic plasticity in Alzheimer's disease: what have we learned so far from transgenic models? *Reviews in the Neurosciences*, 22(4), 373–402.
- Martin, B. (2008). Cognitive function over time in the Alzheimer's disease anti-inflammatory prevention trial: results of a randomized, controlled trial of naxopren and celecoxib, 65(7), 896–905.
- Martins, I. C., Kuperstein, I., Wilkinson, H., Maes, E., Vanbrabant, M., Jonckheere, W., Van Gelder, P., Hartmann, D., D'Hooze, R., De Strooper, B., Schymkowitz, J., and Rousseau, F. (2008). Lipids revert inert Abeta amyloid fibrils to neurotoxic protofibrils that affect learning in mice. *The EMBO Journal*, 27(1), 224–33.
- Marty, V., El Hachmane, M., and Amédée, T. (2008). Dual modulation of synaptic transmission in the nucleus tractus solitarius by prostaglandin E2 synthesized downstream of IL-1beta. *The European Journal of Neuroscience*, 27(12), 3132–50.

- Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L., and Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(12), 4245–9.
- Mattson, M. P. (1997). Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. *Physiological Reviews*, 77(4), 1081–132.
- Mayeux, R. (2010). Clinical practice. Early Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 362(23), 2194–201.
- McCullough, L., Wu, L., Haughey, N., Liang, X., Hand, T., Wang, Q., Breyer, R. M., and Andreasson, K. (2004). Neuroprotective function of the PGE2 EP2 receptor in cerebral ischemia. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(1), 257–68.
- McGeer, P. L., and McGeer, E. G. (2007). NSAIDs and Alzheimer disease: epidemiological, animal model and clinical studies. *Neurobiology of Aging*, 28(5), 639–47.
- McGeer, P. L., McGeer, E. G., Rogers, J., and Sibley, J. (1990). Anti-inflammatory drugs and Alzheimer disease. *Lancet*, 335(8696), 1037.
- McGeer, P. L., Schulzer, M., and McGeer, E. G. (1996). Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease A review of 17 epidemiologic studies. *Neurology*, (C), 425–432.
- McIlhinney, R. A., Molnár, E., Atack, J. R., and Whiting, P. J. (1996). Cell surface expression of the human N-methyl-D-aspartate receptor subunit 1a requires the co-expression of the NR2A subunit in transfected cells. *Neuroscience*, 70(4), 989–97.
- McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack, C. R., Kawas, C. H., Klunk, W. E., Koroshetz, W. J., Manly, J. J., Mayeux, R., Mohs, R. C., Morris, J. C., Rossor, M. N., Scheltens, P., Carrillo, M. C., Thies, B., Weintraub, S., and Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 7(3), 263–9.
- Medeiros, R., and LaFerla, F. M. (2013). Astrocytes: conductors of the Alzheimer disease neuroinflammatory symphony. *Experimental Neurology*, 239, 133–8.
- Mellor, J., Nicoll, R. a, and Schmitz, D. (2002). Mediation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by presynaptic Ih channels. *Science (New York, N.Y.)*, 295(5552), 143–7.
- Meraz-Ríos, M. a, Toral-Rios, D., Franco-Bocanegra, D., Villeda-Hernández, J., and Campos-Peña, V. (2013a). Inflammatory process in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7(August), 59.

- Meraz-Ríos, M. a, Toral-Rios, D., Franco-Bocanegra, D., Villeda-Hernández, J., and Campos-Peña, V. (2013b). Inflammatory process in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7(August), 59.
- Miyaura, C., Inada, M., Suzawa, T., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ichikawa, a, Narumiya, S., and Suda, T. (2000). Impaired bone resorption to prostaglandin E2 in prostaglandin E receptor EP4-knockout mice. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(26), 19819–23.
- Mizoguchi, A., Nakanishi, H., Kimura, K., Matsubara, K., Ozaki-Kuroda, K., Katata, T., Honda, T., Kiyohara, Y., Heo, K., Higashi, M., Tsutsumi, T., Sonoda, S., Ide, C., and Takai, Y. (2002). Nectin: an adhesion molecule involved in formation of synapses. *The Journal of Cell Biology*, 156(3), 555–65.
- Montine, T. J., Milatovic, D., Gupta, R. C., Valyi-Nagy, T., Morrow, J. D., and Breyer, R. M. (2002). Neuronal oxidative damage from activated innate immunity is EP2 receptor-dependent. *Journal of Neurochemistry*, 83(2), 463–70.
- Montine, T. J., Sidell, K. R., Crews, B. C., Markesbery, W. R., Marnett, L. J., Roberts, L. J., and Morrow, J. D. (1999). Elevated CSF prostaglandin E2 levels in patients with probable AD. *Neurology*, 53(7), 1495–8.
- Morihara, T., Teter, B., Yang, F., Lim, G. P., Boudinot, S., Boudinot, F. D., Frautschy, S. A., and Cole, G. M. (2005). Ibuprofen suppresses interleukin-1 β induction of pro-amyloidogenic α 1-antichymotrypsin to ameliorate beta-amyloid (A β) pathology in Alzheimer's models. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(6), 1111–20.
- Moynagh, P. N. (2005). The NF-kappaB pathway. *Journal of Cell Science*, 118(Pt 20), 4589–92.
- Mrak, R. E., and Griffin, W. S. T. (2005). Potential inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 8(4), 369–75.
- Mrak, R. E., Sheng, J. G., and Griffin, W. S. (1996). Correlation of astrocytic S100 β expression with dystrophic neurites in amyloid plaques of Alzheimer's disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 55(3), 273–9.
- Mullan, M., Crawford, F., Axelman, K., Houlden, H., Lilius, L., Winblad, B., and Lannfelt, L. (1992). A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of beta-amyloid. *Nature Genetics*, 1(5), 345–7.
- Mulle, C., Sailer, A., Pérez-Otaño, I., Dickinson-Anson, H., Castillo, P. E., Bureau, I., Maron, C., Gage, F. H., Mann, J. R., Bettler, B., and Heinemann, S. F. (1998). Altered synaptic physiology and reduced susceptibility to kainate-induced seizures in GluR6-deficient mice. *Nature*, 392(6676), 601–5.
- Murakami, M., and Kudo, I. (2004). Recent advances in molecular biology and physiology of the prostaglandin E2-biosynthetic pathway. *Progress in Lipid Research*, 43(1), 3–35.

- Murakami, M., Nakashima, K., Kamei, D., Masuda, S., Ishikawa, Y., Ishii, T., Ohmiya, Y., Watanabe, K., and Kudo, I. (2003). Cellular prostaglandin E2 production by membrane-bound prostaglandin E synthase-2 via both cyclooxygenases-1 and -2. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(39), 37937–47.
- Nagele, R. G., Wegiel, J., Venkataraman, V., Imaki, H., Wang, K.-C., and Wegiel, J. (2004). Contribution of glial cells to the development of amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 25(5), 663–74.
- Nakamura, K., and Kaneko, T. (2000). Immunohistochemical localization of prostaglandin EP3 receptor in the rat nervous system. *The Journal of ...*, 569(February), 543–569.
- Nakayama, Y., Omote, K., Kawamata, T., and Namiki, A. (2004). Role of prostaglandin receptor subtype EP1 in prostaglandin E2-induced nociceptive transmission in the rat spinal dorsal horn. *Brain Research*, 1010(1-2), 62–8.
- Nasjletti, A. (1998). Arthur C. Corcoran Memorial Lecture. The role of eicosanoids in angiotensin-dependent hypertension. *Hypertension*, 31(1 Pt 2), 194–200.
- Nicoll, R. a, and Schmitz, D. (2005). Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(11), 863–76.
- Nicoll, R., and Malenka, R. (1995). Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus.
- Nielsen, M. D., Chan, G. C., Poser, S. W., and Storm, D. R. (1996). Differential regulation of type I and type VIII Ca²⁺-stimulated adenylyl cyclases by Gi-coupled receptors in vivo. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(52), 33308–16.
- Nunan, J., and Small, D. H. (2002). Proteolytic processing of the amyloid-beta protein precursor of Alzheimer's disease. *Essays in Biochemistry*, 38, 37–49.
- Oakley, H., Cole, S. L., Logan, S., Maus, E., Shao, P., Craft, J., Guillozet-Bongaarts, A., Ohno, M., Disterhoft, J., Van Eldik, L., Berry, R., and Vassar, R. (2006). Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(40), 10129–40.
- Oates, J. A., FitzGerald, G. A., Branch, R. A., Jackson, E. K., Knapp, H. R., and Roberts, L. J. (1988). Clinical implications of prostaglandin and thromboxane A2 formation (2). *The New England Journal of Medicine*, 319(12), 761–7.
- Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J. D., Murphy, M. P., Golde, T. E., Kaye, R., Metherate, R., Mattson, M. P., Akbari, Y., and LaFerla, F. M. (2003). Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron*, 39(3), 409–21.

- Ogino, N., Miyamoto, T., Yamamoto, S., and Hayaishi, O. (1977). Prostaglandin endoperoxide E isomerase from bovine vesicular gland microsomes, a glutathione-requiring enzyme. *The Journal of Biological Chemistry*, 252(3), 890–5.
- Oka, T., Oka, K., Scammell, T. E., Lee, C., Kelly, J. F., Nantel, F., Elmquist, J. K., and Saper, C. B. (2000). Relationship of EP(1-4) prostaglandin receptors with rat hypothalamic cell groups involved in lipopolysaccharide fever responses. *The Journal of Comparative Neurology*, 428(1), 20–32.
- Otto, C., Kovalchuk, Y., Wolfer, D. P., Gass, P., Martin, M., Zuschratter, W., Gröne, H. J., Kellendonk, C., Tronche, F., Maldonado, R., Lipp, H. P., Konnerth, a, and Schütz, G. (2001). Impairment of mossy fiber long-term potentiation and associative learning in pituitary adenylate cyclase activating polypeptide type I receptor-deficient mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(15), 5520–7.
- Paganini-Hill, A., and Henderson, V. W. (1994). Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *American Journal of Epidemiology*, 140(3), 256–61.
- Palop, J. J., Chin, J., Roberson, E. D., Wang, J., Thwin, M. T., Bien-Ly, N., Yoo, J., Ho, K. O., Yu, G.-Q., Kreitzer, A., Finkbeiner, S., Noebels, J. L., and Mucke, L. (2007). Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron*, 55(5), 697–711.
- Panickar, K. S., and Norenberg, M. D. (2005). Astrocytes in cerebral ischemic injury: morphological and general considerations. *Glia*, 50(4), 287–98.
- Park, J. Y., Pillinger, M. H., and Abramson, S. B. (2006). Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 119(3), 229–40.
- Pearson-Leary, J., and McNay, E. C. (2012). Intrahippocampal administration of amyloid- β (1-42) oligomers acutely impairs spatial working memory, insulin signaling, and hippocampal metabolism. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 30(2), 413–22.
- Perea, G., Navarrete, M., and Araque, A. (2009). Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends in Neurosciences*, 32(8), 421–31.
- Petersen, R. C., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R. C., Morris, J. C., Rabins, P. V, Ritchie, K., Rossor, M., Thal, L., and Winblad, B. (2001). Current concepts in mild cognitive impairment. *Archives of Neurology*, 58(12), 1985–92.
- Petrella, J. R., Coleman, R. E., and Doraiswamy, P. M. (2003). Neuroimaging and early diagnosis of Alzheimer disease: a look to the future. *Radiology*, 226(2), 315–36.
- Pinheiro, P. S., Perrais, D., Coussen, F., Barhanin, J., Bettler, B., Mann, J. R., Malva, J. O., Heinemann, S. F., and Mulle, C. (2007). GluR7 is an essential subunit of presynaptic kainate autoreceptors at hippocampal mossy fiber synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(29), 12181.

- Pistritto, G., Franzese, O., Pozzoli, G., Mancuso, C., Tringali, G., Preziosi, P., and Navarra, P. (1999). Bacterial lipopolysaccharide increases prostaglandin production by rat astrocytes via inducible cyclo-oxygenase: evidence for the involvement of nuclear factor kappaB. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 263(2), 570–4.
- Polydoro, M., Acker, C. M., Duff, K., Castillo, P. E., and Davies, P. (2009). Age-dependent impairment of cognitive and synaptic function in the htau mouse model of tau pathology. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(34), 10741–9.
- Pooler, A. M., Arjona, A. A., Lee, R. K., and Wurtman, R. J. (2004). Prostaglandin E2 regulates amyloid precursor protein expression via the EP2 receptor in cultured rat microglia. *Neuroscience Letters*, 362(2), 127–30.
- Pooler, A. M., Noble, W., and Hanger, D. P. (2014). A role for tau at the synapse in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neuropharmacology*, 76 Pt A, 1–8.
- Price, D. L., and Sisodia, S. S. (1998). Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. *Annual Review of Neuroscience*, 21, 479–505.
- Puzzo, D., Privitera, L., Leznik, E., Fà, M., Staniszewski, A., Palmeri, A., and Arancio, O. (2008). Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(53), 14537–45.
- Qiu, W. Q., Walsh, D. M., Ye, Z., Vekrellis, K., Zhang, J., Podlisny, M. B., Rosner, M. R., Safavi, A., Hersh, L. B., and Selkoe, D. J. (1998). Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(49), 32730–8.
- Querfurth, H. W., and Laferla, F. M. (2010). Alzheimer's Disease. *The New England Journal of Medicine*, 329–344.
- Rabin, L. A., Paré, N., Saykin, A. J., Brown, M. J., Wishart, H. A., Flashman, L. A., and Santulli, R. B. (2009). Differential memory test sensitivity for diagnosing amnesic mild cognitive impairment and predicting conversion to Alzheimer's disease. *Neuropsychology, Development, and Cognition. Section B, Aging, Neuropsychology and Cognition*, 16(3), 357–76.
- Ranels, H. J., and Griffin, J. D. (2003). The effects of prostaglandin E2 on the firing rate activity of thermosensitive and temperature insensitive neurons in the ventromedial preoptic area of the rat hypothalamus. *Brain Research*, 964(1), 42–50.
- Rapoport, M., Dawson, H. N., Binder, L. I., Vitek, M. P., and Ferreira, A. (2002). Tau is essential to beta -amyloid-induced neurotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(9), 6364–9.
- Rebola, N., Carta, M., Lanore, F., Blanchet, C., and Mulle, C. (2011). NMDA receptor-dependent metaplasticity at hippocampal mossy fiber synapses. *Nature Neuroscience*, 14(6), 691–3.

- Rebola, N., Lujan, R., Cunha, R. A., and Mulle, C. (2008). Adenosine A2A receptors are essential for long-term potentiation of NMDA-EPSCs at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuron*, 57(1), 121–34.
- Reddy, P. H. (2011). Abnormal tau, mitochondrial dysfunction, impaired axonal transport of mitochondria, and synaptic deprivation in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1415, 136–48.
- Regan, J. W., Bailey, T. J., Donello, J. E., Pierce, K. L., Pepperl, D. J., Zhang, D., Kedzie, K. M., Fairbairn, C. E., Bogardus, A. M., and Woodward, D. F. (1994). Molecular cloning and expression of human EP3 receptors: evidence of three variants with differing carboxyl termini. *British Journal of Pharmacology*, 112(2), 377–85.
- Reilly, J. F., Games, D., Rydel, R. E., Freedman, S., Schenk, D., Young, W. G., Morrison, J. H., and Bloom, F. E. (2003). Amyloid deposition in the hippocampus and entorhinal cortex: quantitative analysis of a transgenic mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(8), 4837–42.
- Reimann, W., Steinhauer, H. B., Hedler, L., Starke, K., and Hertting, G. (1981). Effect of prostaglandins D2, E2 and F2alpha on catecholamine release from slices of rat and rabbit brain. *European Journal of Pharmacology*, 69(4), 421–7.
- Revett, T. J., Baker, G. B., Jhamandas, J., and Kar, S. (2013). Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*, 38(1), 6–23.
- Reynolds, G. P., Mason, S. L., Meldrum, A., De Keczer, S., Parnes, H., Eglen, R. M., and Wong, E. H. (1995). 5-Hydroxytryptamine (5-HT)₄ receptors in post mortem human brain tissue: distribution, pharmacology and effects of neurodegenerative diseases. *British Journal of Pharmacology*, 114(5), 993–8.
- Roberson, E. D., Halabisky, B., Yoo, J. W., Yao, J., Chin, J., Yan, F., Wu, T., Hamto, P., Devidze, N., Yu, G.-Q., Palop, J. J., Noebels, J. L., and Mucke, L. (2011). Amyloid- β /Fyn-induced synaptic, network, and cognitive impairments depend on tau levels in multiple mouse models of Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(2), 700–11.
- Roberson, E. D., Scarce-Levie, K., Palop, J. J., Yan, F., Cheng, I. H., Wu, T., Gerstein, H., Yu, G.-Q., and Mucke, L. (2007). Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5825), 750–4.
- Robert, P., Ferris, S., Gauthier, S., Ihl, R., Winblad, B., and Tennigkeit, F. (2010). Review of Alzheimer's disease scales: is there a need for a new multi-domain scale for therapy evaluation in medical practice? *Alzheimer's Research & Therapy*, 2(4), 24.
- Rogers, J., Kirby, L. C., Hempelman, S. R., Berry, D. L., McGeer, P. L., Kaszniak, A. W., Zalinski, J., Cofield, M., Mansukhani, L., and Willson, P. (1993). Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. *Neurology*, 43(8), 1609–11.

- Rollenhagen, A., Sätzler, K., Rodríguez, E. P., Jonas, P., Frotscher, M., and Lübke, J. H. R. (2007). Structural determinants of transmission at large hippocampal mossy fiber synapses. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(39), 10434–44.
- Rusanen, M., Kivipelto, M., Quesenberry, C. P., Zhou, J., and Whitmer, R. A. (2011). Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Archives of Internal Medicine*, 171(4), 333–9.
- Sabo, S. L., Ikin, A. F., Buxbaum, J. D., and Greengard, P. (2001). The Alzheimer amyloid precursor protein (APP) and FE65, an APP-binding protein, regulate cell movement. *The Journal of Cell Biology*, 153(7), 1403–14.
- Sabo, S. L., Ikin, A. F., Buxbaum, J. D., and Greengard, P. (2003). The amyloid precursor protein and its regulatory protein, FE65, in growth cones and synapses in vitro and in vivo. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(13), 5407–15.
- Sakai, N., Sasa, M., Ishihara, K., Komure, O., Tanaka, C., and Takaori, S. (1991). Effects of L-threo-DOPS, a noradrenaline precursor, on the long-term potentiation in the rat hippocampal mossy fiber-CA3 region. *Brain Research*, 567(2), 267–73.
- Sakuma, Y., Tanaka, K., Suda, M., Yasoda, a, Natsui, K., Tanaka, I., Ushikubi, F., Narumiya, S., Segi, E., Sugimoto, Y., Ichikawa, a, and Nakao, K. (2000). Crucial involvement of the EP4 subtype of prostaglandin E receptor in osteoclast formation by proinflammatory cytokines and lipopolysaccharide. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 15(2), 218–27.
- Salin, P. a, Scanziani, M., Malenka, R. C., and Nicoll, R. a. (1996). Distinct short-term plasticity at two excitatory synapses in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(23), 13304–9.
- Sang, N., Zhang, J., Marcheselli, V., Bazan, N. G., and Chen, C. (2005). Postsynaptically synthesized prostaglandin E2 (PGE2) modulates hippocampal synaptic transmission via a presynaptic PGE2 EP2 receptor. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(43), 9858–70.
- Saper, C., and Breder, C. (1994). The neurologic basis of fever. *The New England Journal of Medicine*.
- Sastre, M., Dewachter, I., Landreth, G. E., Willson, T. M., Klockgether, T., van Leuven, F., and Heneka, M. T. (2003). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists modulate immunostimulated processing of amyloid precursor protein through regulation of beta-secretase. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(30), 9796–804.
- Sastre, M., Dewachter, I., Rossner, S., Bogdanovic, N., Rosen, E., Borghgraef, P., Evert, B. O., Dumitrescu-Ozimek, L., Thal, D. R., Landreth, G., Walter, J., Klockgether, T., van Leuven, F., and Heneka, M. T. (2006). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs repress

- beta-secretase gene promoter activity by the activation of PPARgamma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(2), 443–8.
- Satoh, K., Nagano, Y., Shimomura, C., Suzuki, N., Saeki, Y., and Yokota, H. (2000). Expression of prostaglandin E synthase mRNA is induced in beta-amyloid treated rat astrocytes. *Neuroscience Letters*, 283(3), 221–3.
- Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D., George-Hyslop, P. H., Pericak-Vance, M. A., Joo, S. H., Rosi, B. L., Gusella, J. F., Crapper-MacLachlan, D. R., and Alberts, M. J. (1993). Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*, 43(8), 1467–72.
- Schellenberg, G. D., Bird, T. D., Wijsman, E. M., Orr, H. T., Anderson, L., Nemens, E., White, J. A., Bonnycastle, L., Weber, J. L., and Alonso, M. E. (1992). Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science (New York, N.Y.)*, 258(5082), 668–71.
- Schlicker, E., Fink, K., and Göthert, M. (1987). Influence of eicosanoids on serotonin release in the rat brain: inhibition by prostaglandins E1 and E2. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 335(6), 646–51.
- Schlöndorff, J., and Blobel, C. P. (1999). Metalloprotease-disintegrins: modular proteins capable of promoting cell-cell interactions and triggering signals by protein-ectodomain shedding. *Journal of Cell Science*, 112 (Pt 2, 3603–17.
- Schneggenburger, R., Meyer, A. C., and Neher, E. (1999). Released fraction and total size of a pool of immediately available transmitter quanta at a calyx synapse. *Neuron*, 23(2), 399–409.
- Schulz, K. L., Eckert, A., Rhein, V., Mai, S., Haase, W., Reichert, A. S., Jendrach, M., Müller, W. E., and Leuner, K. (2012). A new link to mitochondrial impairment in tauopathies. *Molecular Neurobiology*, 46(1), 205–16.
- Sekiyama, N., Mizuta, S., Hori, A., and Kobayashi, S. (1995). Prostaglandin E2 facilitates excitatory synaptic transmission in the nucleus tractus solitarii of rats. *Neuroscience Letters*, 188(2), 101–4.
- Selkoe, D. (2002). Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science (New York, N.Y.)*, 298(5594), 789–91.
- Selkoe, D. J. (1994). Amyloid beta-protein precursor: new clues to the genesis of Alzheimer's disease. *Current Opinion in Neurobiology*, 4(5), 708–16.
- Seregi, A., Folly, G., Antal, M., Serfözö, P., and Schaefer, A. (1981). Studies on prostaglandin F2 alpha formation caused by pentametylenetetrazol-induced convulsions in rat brain. *Prostaglandins*, 21(2), 217–26.
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E., and Hyman, B. T. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1), a006189.

- Shankar, G. M., Bloodgood, B. L., Townsend, M., Walsh, D. M., Selkoe, D. J., and Sabatini, B. L. (2007). Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(11), 2866–75.
- Shen, F., Smith, J. A. M., Chang, R., Bourdet, D. L., Tsuruda, P. R., Obedencio, G. P., and Beattie, D. T. (2011). 5-HT(4) receptor agonist mediated enhancement of cognitive function in vivo and amyloid precursor protein processing in vitro: A pharmacodynamic and pharmacokinetic assessment. *Neuropharmacology*, 61(1-2), 69–79.
- Sheng, M., Sabatini, B. L., and Südhof, T. C. (2012). Synapses and Alzheimer's disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(5).
- Shi, J., Wang, Q., Johansson, J. U., Liang, X., Woodling, N. S., Priyam, P., Loui, T. M., Merchant, M., Breyer, R. M., Montine, T. J., and Andreasson, K. (2012). Inflammatory prostaglandin E2 signaling in a mouse model of Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, 72(5), 788–98.
- Shi, S. H., Hayashi, Y., Petralia, R. S., Zaman, S. H., Wenthold, R. J., Svoboda, K., and Malinow, R. (1999). Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science (New York, N.Y.)*, 284(5421), 1811–6.
- Shibuya, I., Setiadji, S. V., Ibrahim, N., Harayama, N., Maruyama, T., Ueta, Y., and Yamashita, H. (2002). Involvement of postsynaptic EP4 and presynaptic EP3 receptors in actions of prostaglandin E2 in rat supraoptic neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, 14(1), 64–72.
- Shie, F.-S., Breyer, R. M., and Montine, T. J. (2005). Microglia lacking E Prostanoid Receptor subtype 2 have enhanced Abeta phagocytosis yet lack Abeta-activated neurotoxicity. *The American Journal of Pathology*, 166(4), 1163–72.
- Shigemoto, R., Kinoshita, A., Wada, E., Nomura, S., Ohishi, H., Takada, M., Flor, P. J., Neki, A., Abe, T., Nakanishi, S., and Mizuno, N. (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(19), 7503–22.
- Simmons, D. L., Levy, D. B., Yannoni, Y., and Erikson, R. L. (1989). Identification of a phorbol ester-repressible v-src-inducible gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(4), 1178–82.
- Slawik, H. (2004). Microglial expression of prostaglandin EP3 receptor in excitotoxic lesions in the rat striatum. *Neurochemistry International*, 45(5), 653–660.
- Smith, G., Roberts, R., Hall, C., and Nuki, G. (1996). Reversible ovulatory failure associated with the development of luteinized unruptured follicles in women with inflammatory arthritis taking non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Rheumatology*, 458–462.
- Smith, W. L. (1989). The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *The Biochemical Journal*, 259(2), 315–24.

- Smith, W. L., DeWitt, D. L., and Garavito, R. M. (2000). Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annual Review of Biochemistry*, 69, 145–82.
- Snyder, E. M., Nong, Y., Almeida, C. G., Paul, S., Moran, T., Choi, E. Y., Nairn, A. C., Salter, M. W., Lombroso, P. J., Gouras, G. K., and Greengard, P. (2005). Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nature Neuroscience*, 8(8), 1051–8.
- Soininen, H., West, C., Robbins, J., and Niculescu, L. (2007). Long-term efficacy and safety of celecoxib in Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 23(1), 8–21.
- Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N., and Murtagh, F. R. (1995). An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clinical Anatomy (New York, N.Y.)*, 8(6), 429–31.
- Stewart, W. F., Kawas, C., Corrada, M., and Metter, E. J. (1997). Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. *Neurology*, 48(3), 626–632.
- Stitt, J. (1986). Prostaglandin E as the neural mediator of the febrile response. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 59, 137–149.
- Sudhof, T. C. (2004). The synaptic vesicle cycle. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 509–47.
- Sugimoto, Y., Negishi, M., Hayashi, Y., Namba, T., Honda, A., Watabe, A., Hirata, M., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1993). Two isoforms of the EP3 receptor with different carboxyl-terminal domains. Identical ligand binding properties and different coupling properties with Gi proteins. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(4), 2712–8.
- Sumitani, K., Kamijo, R., Toyoshima, T., Nakanishi, Y., Takizawa, K., Hatori, M., and Nagumo, M. (2001). Specific inhibition of cyclooxygenase-2 results in inhibition of proliferation of oral cancer cell lines via suppression of prostaglandin E2 production. *Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 30(1), 41–7.
- Sutarmo Setiadji, V., Shibuya, I., Kabashima, N., Ibrahim, N., Harayama, N., Ueta, Y., and Yamashita, H. (1998). Actions of prostaglandin E2 on rat supraoptic neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, 10(12), 927–36.
- Suto, F., Tsuboi, M., Kamiya, H., Mizuno, H., Kiyama, Y., Komai, S., Shimizu, M., Sanbo, M., Yagi, T., Hiromi, Y., Chédotal, A., Mitchell, K. J., Manabe, T., and Fujisawa, H. (2007). Interactions between plexin-A2, plexin-A4, and semaphorin 6A control lamina-restricted projection of hippocampal mossy fibers. *Neuron*, 53(4), 535–47.
- Suyama, S., Hikima, T., Sakagami, H., Ishizuka, T., and Yawo, H. (2007). Synaptic vesicle dynamics in the mossy fiber-CA3 presynaptic terminals of mouse hippocampus. *Neuroscience Research*, 59(4), 481–90.

- Suzuki, N., Cheung, T. T., Cai, X. D., Odaka, A., Otvos, L., Eckman, C., Golde, T. E., and Younkin, S. G. (1994). An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science (New York, N.Y.)*, 264(5163), 1336–40.
- Tai, H., Miyaura, C., Pilbeam, C. C., Tamura, T., Ohsugi, Y., Koishihara, Y., Kubodera, N., Kawaguchi, H., Raisz, L. G., and Suda, T. (1997). Transcriptional induction of cyclooxygenase-2 in osteoblasts is involved in interleukin-6-induced osteoclast formation. *Endocrinology*, 138(6), 2372–9.
- Takadera, T., Shiraishi, Y., and Ohayashiki, T. (2004). Prostaglandin E2 induced caspase-dependent apoptosis possibly through activation of EP2 receptors in cultured hippocampal neurons. *Neurochemistry International*, 45(5), 713–9.
- Tamura, M., Koyama, R., Ikegaya, Y., Matsuki, N., and Yamada, M. K. (2006). K252a, an inhibitor of Trk, disturbs pathfinding of hippocampal mossy fibers. *Neuroreport*, 17(5), 481–6.
- Tan, Z. S., Beiser, a S., Vasan, R. S., Roubenoff, R., Dinarello, C. a, Harris, T. B., Benjamin, E. J., Au, R., Kiel, D. P., Wolf, P. a, and Seshadri, S. (2007). Inflammatory markers and the risk of Alzheimer disease: the Framingham Study. *Neurology*, 68(22), 1902–8.
- Tang, Y.-P., and Gershon, E. S. (2003). Genetic studies in Alzheimer's disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 5(1), 17–26.
- Tanioka, T., Nakatani, Y., Semmyo, N., Murakami, M., and Kudo, I. (2000). Molecular identification of cytosolic prostaglandin E2 synthase that is functionally coupled with cyclooxygenase-1 in immediate prostaglandin E2 biosynthesis. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(42), 32775–82.
- Tarkowski, E., Issa, R., Sjögren, M., Wallin, A., Blennow, K., Tarkowski, A., and Kumar, P. (2002). Increased intrathecal levels of the angiogenic factors VEGF and TGF-beta in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurobiology of Aging*, 23(2), 237–43.
- Tawarayama, H., Yoshida, Y., Suto, F., Mitchell, K. J., and Fujisawa, H. (2010). Roles of semaphorin-6B and plexin-A2 in lamina-restricted projection of hippocampal mossy fibers. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(20), 7049–60.
- Tegeder, I., Pfeilschifter, J., and Geisslinger, G. (2001). Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15(12), 2057–72.
- Terry, R. D., Masliah, E., Salmon, D. P., Butters, N., DeTeresa, R., Hill, R., Hansen, L. A., and Katzman, R. (1991). Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Annals of Neurology*, 30(4), 572–80.
- Terwel, D., Steffensen, K. R., Verghese, P. B., Kummer, M. P., Gustafsson, J.-Å., Holtzman, D. M., and Heneka, M. T. (2011). Critical role of astroglial apolipoprotein E and liver X

- receptor- α expression for microglial A β phagocytosis. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(19), 7049–59.
- Thal, L. J., Ferris, S. H., Kirby, L., Block, G. a, Lines, C. R., Yuen, E., Assaid, C., Nessly, M. L., Norman, B. a, Baranak, C. C., and Reines, S. a. (2005). A randomized, double-blind, study of rofecoxib in patients with mild cognitive impairment. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(6), 1204–15.
- Thinakaran, G., and Koo, E. H. (2008). Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(44), 29615–9.
- Town, T., Nikolic, V., and Tan, J. (2005). The microglial “activation” continuum: from innate to adaptive responses. *Journal of Neuroinflammation*, 2, 24.
- Traber, M. G., van der Vliet, A., Reznick, A. Z., and Cross, C. E. (2000). Tobacco-related diseases. Is there a role for antioxidant micronutrient supplementation? *Clinics in Chest Medicine*, 21(1), 173–87, x.
- Trinchese, F., Fa', M., Liu, S., Zhang, H., Hidalgo, A., Schmidt, S. D., Yamaguchi, H., Yoshii, N., Mathews, P. M., Nixon, R. A., and Arancio, O. (2008). Inhibition of calpains improves memory and synaptic transmission in a mouse model of Alzheimer disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(8), 2796–807.
- Trinchese, F., Liu, S., Battaglia, F., Walter, S., Mathews, P. M., and Arancio, O. (2004). Progressive age-related development of Alzheimer-like pathology in APP/PS1 mice. *Annals of Neurology*, 55(6), 801–14.
- Tzounopoulos, T., Janz, R., Südhof, T. C., Nicoll, R. A., and Malenka, R. C. (1998). A role for cAMP in long-term depression at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuron*, 21(4), 837–45.
- Urban, N. N., Henze, D. a, and Barrionuevo, G. (2001). Revisiting the role of the hippocampal mossy fiber synapse. *Hippocampus*, 11(4), 408–17.
- Van Duijn, C. M., Clayton, D., Chandra, V., Fratiglioni, L., Graves, A. B., Heyman, A., Jorm, A. F., Kokmen, E., Kondo, K., Mortimer, J. A., Rocca, W. A., Shalat, S. L., Soininen, H., and Hofman, A. (1991). Familial aggregation of Alzheimer's disease and related disorders: a collaborative re-analysis of case-control studies. *International Journal of Epidemiology*, 20 Suppl 2, S13–20.
- Vane, J. R., Bakhle, Y. S., and Botting, R. M. (1998). Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 38, 97–120.
- Vassar, R. (2004). BACE1: the beta-secretase enzyme in Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Neuroscience : MN*, 23(1-2), 105–14.
- Vassar, R., Bennett, B. D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E. A., Denis, P., Teplow, D. B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., Luo, Y., Fisher, S., Fuller, J., Edenson, S., Lile, J., Jarosinski, M. A., Biere, A. L., Curran, E., Burgess, T., Louis, J. C., Collins, F.,

- Treanor, J., Rogers, G., and Citron, M. (1999). Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science (New York, N.Y.)*, 286(5440), 735–41.
- Veerhuis, R., Janssen, I., De Groot, C. J., Van Muiswinkel, F. L., Hack, C. E., and Eikelenboom, P. (1999). Cytokines associated with amyloid plaques in Alzheimer's disease brain stimulate human glial and neuronal cell cultures to secrete early complement proteins, but not C1-inhibitor. *Experimental Neurology*, 160(1), 289–99.
- Vignes, M., and Collingridge, G. L. (1997). The synaptic activation of kainate receptors. *Nature*, 388(6638), 179–82.
- Villa, E., Garcia-Robles, R., Haas, J., and Romero, J. C. (1997). Comparative effect of PGE2 and PGI2 on renal function. *Hypertension*, 30(3 Pt 2), 664–6.
- Villacres, E. C., Wong, S. T., Chavkin, C., and Storm, D. R. (1998). Type I adenylyl cyclase mutant mice have impaired mossy fiber long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 18(9), 3186–94.
- Vlad, S. C., Miller, D. R., Kowall, N. W., and Felson, D. T. (2008). Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology*, 70(19), 1672–7.
- Volianskis, A., Køstner, R., Mølgaard, M., Hass, S., and Jensen, M. S. (2010). Episodic memory deficits are not related to altered glutamatergic synaptic transmission and plasticity in the CA1 hippocampus of the APPswe/PS1 δ E9-deleted transgenic mice model of β -amyloidosis. *Neurobiology of Aging*, 31(7), 1173–87.
- Von Rotz, R. C., Kohli, B. M., Bosset, J., Meier, M., Suzuki, T., Nitsch, R. M., and Konietzko, U. (2004). The APP intracellular domain forms nuclear multiprotein complexes and regulates the transcription of its own precursor. *Journal of Cell Science*, 117(Pt 19), 4435–48.
- Wang, H., Pineda, V. V., Chan, G. C. K., Wong, S. T., Muglia, L. J., and Storm, D. R. (2003). Type 8 adenylyl cyclase is targeted to excitatory synapses and required for mossy fiber long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(30), 9710–8.
- Wang, X., Su, B., Lee, H., Li, X., Perry, G., Smith, M. A., and Zhu, X. (2009). Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(28), 9090–103.
- Watanabe, K., Kawamori, T., Nakatsugi, S., Ohta, T., Ohuchida, S., Yamamoto, H., Maruyama, T., Kondo, K., Ushikubi, F., Narumiya, S., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. (1999). Role of the prostaglandin E receptor subtype EP1 in colon carcinogenesis. *Cancer Research*, 59(20), 5093–6.
- Watanabe, K., Kurihara, K., Tokunaga, Y., and Hayaishi, O. (1997). Two types of microsomal prostaglandin E synthase: glutathione-dependent and -independent prostaglandin E synthases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 235(1), 148–52.

- Weggen, S., Eriksen, J. L., Das, P., Sagi, S. a, Wang, R., Pietrzik, C. U., Findlay, K. a, Smith, T. E., Murphy, M. P., Bulter, T., Kang, D. E., Marquez-Sterling, N., Golde, T. E., and Koo, E. H. (2001). A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature*, 414(6860), 212–6.
- Weisskopf, M. G., Castillo, P. E., Zalutsky, R. a, and Nicoll, R. a. (1994). Mediation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by cyclic AMP. *Science (New York, N.Y.)*, 265(5180), 1878–82.
- Wiltfang, J., Esselmann, H., Bibl, M., Smirnov, A., Otto, M., Paul, S., Schmidt, B., Klafki, H.-W., Maler, M., Dyrks, T., Bienert, M., Beyermann, M., R  ther, E., and Kornhuber, J. (2002). Highly conserved and disease-specific patterns of carboxyterminally truncated Abeta peptides 1-37/38/39 in addition to 1-40/42 in Alzheimer’s disease and in patients with chronic neuroinflammation. *Journal of Neurochemistry*, 81(3), 481–96.
- Wisniewski, H. M., Barcikowska, M., and Kida, E. (1991). Phagocytosis of beta/A4 amyloid fibrils of the neuritic neocortical plaques. *Acta Neuropathologica*, 81(5), 588–90.
- Witton, J., Brown, J. T., Jones, M. W., and Randall, A. D. (2010). Altered synaptic plasticity in the mossy fibre pathway of transgenic mice expressing mutant amyloid precursor protein. *Molecular Brain*, 3, 32.
- Wolfson, C., Oremus, M., Shukla, V., Momoli, F., Demers, L., Perrault, A., and Moride, Y. (2002). Donepezil and rivastigmine in the treatment of Alzheimer’s disease: a best-evidence synthesis of the published data on their efficacy and cost-effectiveness. *Clinical Therapeutics*, 24(6), 862–86; discussion 837.
- Wong, S. T., Athos, J., Figueroa, X. a, Pineda, V. V, Schaefer, M. L., Chavkin, C. C., Muglia, L. J., and Storm, D. R. (1999). Calcium-stimulated adenylyl cyclase activity is critical for hippocampus-dependent long-term memory and late phase LTP. *Neuron*, 23(4), 787–98.
- Woodling, N. S., Wang, Q., Priyam, P. G., Larkin, P., Shi, J., Johansson, J. U., Zagol-Ikapitte, I., Boutaud, O., and Andreasson, K. I. (2014). Suppression of Alzheimer-Associated Inflammation by Microglial Prostaglandin-E2 EP4 Receptor Signaling. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(17), 5882–94.
- Wu, L., Wang, Q., Liang, X., and Andreasson, K. (2007). Divergent effects of prostaglandin receptor signaling on neuronal survival. *Neuroscience Letters*, 421(3), 253–258.
- Wyss-Coray, T. (2006). Inflammation in Alzheimer disease: driving force, bystander or beneficial response? *Nature Medicine*, 12(9), 1005–15.
- Wyss-Coray, T., Loike, J. D., Brionne, T. C., Lu, E., Anankov, R., Yan, F., Silverstein, S. C., and Husemann, J. (2003). Adult mouse astrocytes degrade amyloid-beta in vitro and in situ. *Nature Medicine*, 9(4), 453–7.
- Xia, M. Q., Qin, S. X., Wu, L. J., Mackay, C. R., and Hyman, B. T. (1998). Immunohistochemical study of the beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 and their

- ligands in normal and Alzheimer's disease brains. *The American Journal of Pathology*, 153(1), 31–7.
- Xia, Z., Choi, E. J., Wang, F., Blazynski, C., and Storm, D. R. (1993). Type I calmodulin-sensitive adenylyl cyclase is neural specific. *Journal of Neurochemistry*, 60(1), 305–11.
- Yamada, A., Irie, K., Deguchi-Tawarada, M., Ohtsuka, T., and Takai, Y. (2003). Nectin-dependent localization of synaptic scaffolding molecule (S-SCAM) at the puncta adherentia junctions formed between the mossy fibre terminals and the dendrites of pyramidal cells in the CA3 area of the mouse hippocampus. *Genes to Cells : Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, 8(12), 985–94.
- Yamagata, K., Andreasson, K. I., Kaufmann, W. E., Barnes, C. A., and Worley, P. F. (1993). Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron*, 11(2), 371–86.
- Yan, Q., Zhang, J., Liu, H., Babu-Khan, S., Vassar, R., Biere, A. L., Citron, M., and Landreth, G. (2003). Anti-inflammatory drug therapy alters beta-amyloid processing and deposition in an animal model of Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(20), 7504–9.
- Yang, H., Zhang, J., Breyer, R. M., and Chen, C. (2009). Altered hippocampal long-term synaptic plasticity in mice deficient in the PGE2 EP2 receptor. *Journal of Neurochemistry*, 108(1), 295–304.
- Yang, H., Zhuo, J.-M., Chu, J., Chinnici, C., and Praticò, D. (2010). Amelioration of the Alzheimer's disease phenotype by absence of 12/15-lipoxygenase. *Biological Psychiatry*, 68(10), 922–9.
- Yao, P. J., Zhu, M., Pyun, E. I., Brooks, A. I., Therianos, S., Meyers, V. E., and Coleman, P. D. (2003). Defects in expression of genes related to synaptic vesicle trafficking in frontal cortex of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 12(2), 97–109.
- Yokoi, M., Kobayashi, K., Manabe, T., Takahashi, T., Sakaguchi, I., Katsuura, G., Shigemoto, R., Ohishi, H., Nomura, S., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., and Nakanishi, S. (1996). Impairment of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking mGluR2. *Science (New York, N.Y.)*, 273(5275), 645–7.
- Yoshiike, Y., Kimura, T., Yamashita, S., Furudate, H., Mizoroki, T., Murayama, M., and Takashima, A. (2008). GABA(A) receptor-mediated acceleration of aging-associated memory decline in APP/PS1 mice and its pharmacological treatment by picrotoxin. *PloS One*, 3(8), e3029.
- Zalutsky, R. A., and Nicoll, R. A. (1990). Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science (New York, N.Y.)*, 248(4963), 1619–24.
- Zhang, J., and Rivest, S. (1999). Distribution, regulation and colocalization of the genes encoding the EP2- and EP4-PGE2 receptors in the rat brain and neuronal responses to systemic inflammation. *The European Journal of Neuroscience*, 11(8), 2651–68.

- Zhang, J., and Rivest, S. (2008). Distribution, regulation and colocalization of the genes encoding the EP2 • and EP4 • PGE2 receptors in the rat brain and neuronal responses to systemic inflammation. *European Journal of Neuroscience*, 11, 2651–2668.
- Zhang, Y., Guan, Y., Schneider, A., Brandon, S., Breyer, R. M., and Breyer, M. D. (2000). Characterization of Murine Vasopressor and Vasodepressor Prostaglandin E2 Receptors. *Hypertension*, 35(5), 1129–1134.
- Zlokovic, B. V. (2011). Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature Reviews. Neuroscience*, 12(12), 723–38.